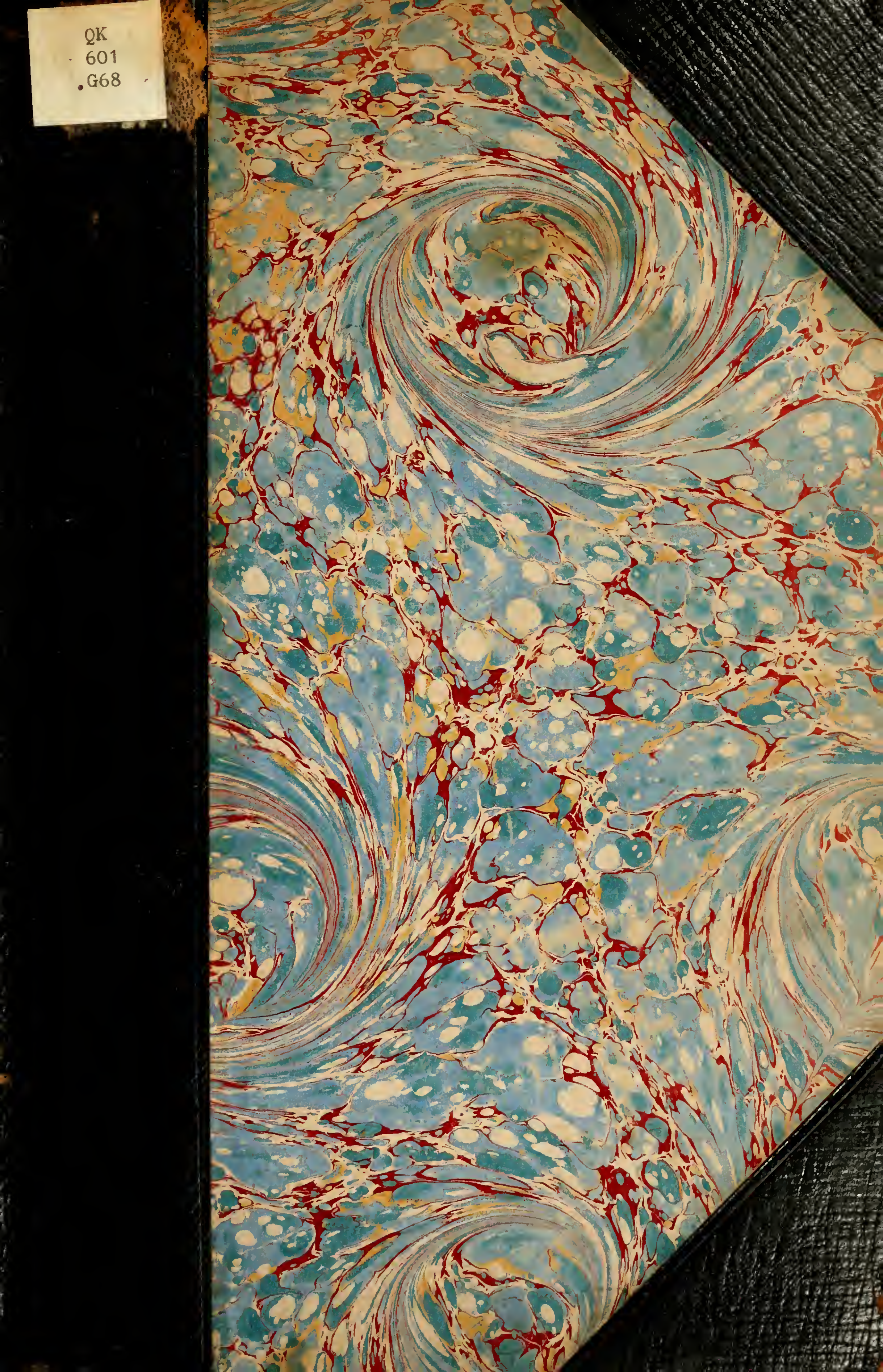
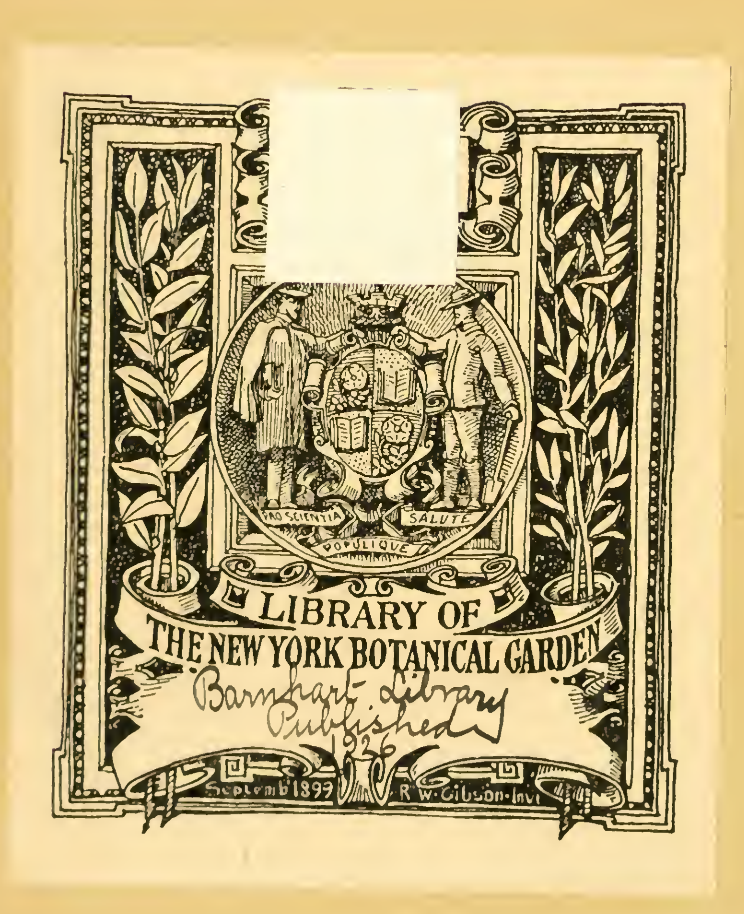



PRO SCIENTIA
SALUTE
POPULIQUE
LIBRARY OF
THE NEW YORK BOTANICAL GARDEN
Barnhart Library
Published
1936
Septemb 1899
R.W. Gibson Invt

ÉTUDE

SUR LA

REPRODUCTION SEXUÉE

DE QUELQUES

Champignons supérieurs

PAR

A. DE GRAMONT DE LESPARRE

Avec 16 figures et 3 planches.

PARIS

LIBRAIRIE DES SCIENCES NATURELLES

PAUL KLINCKSIECK

Éditeur

3, RUE CORNEILLE, 3

—

1902

REPRODUCTION SEXUÉE

DE QUELQUES

Champignons supérieurs

ÉTUDE

SUR LA

REPRODUCTION SEXUÉE

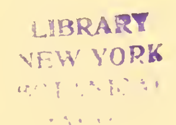
DE QUELQUES

Champignons supérieurs

PAR

A. DE GRAMONT DE LESPARRE

Avec 16 figures et 3 planches.



PARIS

LIBRAIRIE DES SCIENCES NATURELLES

PAUL KLINCKSIECK

Éditeur

3, RUE CORNEILLE, 3

—

1902

INTRODUCTION

Lorsque nous publiions, il y a quatre ans, le résultat de nos recherches sur la germination des spores de la Truffe, il paraissait vraisemblable que le même mode de reproduction était commun aux autres champignons, tout au moins aux champignons supérieurs. Quelques observations faites dans ce sens faisaient prévoir la similitude des évolutions.

Ces prévisions ont été confirmées. Des observations postérieures, que nous résumons dans ce volume, ont montré que la germination sexuée des spores de la Truffe pouvait être prise comme type des germinations des autres espèces étudiées. A vrai dire, dans l'ensemble, le type pourrait être choisi presque au hasard, tant est grande la ressemblance des évolutions au point de vue de la forme comme au point de vue de la durée.

Notre première étude sur les spores de la Truffe était, il faut le reconnaître, quelque peu confuse ; des faits exceptionnels ou accessoires y tenaient une place exagérée. Nous nous efforcerons de remédier à ce défaut qui, peut-être au début, n'était pas tout à fait sans excuse. Lorsqu'on étudie un sujet nouveau, les cas particuliers et anormaux, les détails secondaires jettent dès l'abord le trouble dans l'esprit. On ne discerne pas l'exception de la règle, l'accidentel du permanent ; c'est à la longue, après de nombreuses recherches, que les grandes lignes s'accentuent, se précisent. C'est ainsi qu'aujourd'hui nous pouvons élaguer, simplifier, et dans certains cas être plus affirmatifs. Est-ce à dire que la lumière est complète ; que plus rien n'est douteux dans l'évolution exté-

rieure des spores et dans les conclusions qui en découlent? Bien loin de là; les avis peuvent être très différents.

J'incline simplement à penser que, des faits observés, de leur constance, de leur caractère, peut être déduite dans ces traits principaux une loi que j'appellerai « Loi de reproduction sexuée de... quelques champignons supérieurs ».

Hâtons-nous d'ajouter que si nous pensons connaître le cycle extérieur de l'évolution, comprenant la fécondation, l'autre partie, le cycle souterrain, nous échappe encore. D'après des observations variées mais trop longues à rapporter ici, nous serions portés à croire, avec beaucoup d'autres, qu'il s'exécute dans des conditions déterminées en dehors desquelles il n'a pas lieu. Certains aliments seraient indispensables et le germe avorte s'il ne les rencontre pas. Le mycélium serait parasite de racines, de racines en général. Il y trouverait de l'humidité dans les grandes sécheresses sans avoir à craindre la corruption parasitaire. Peut-être certaines conditions de chaleur et de temps s'imposent-elles également. Quoi qu'il en soit, ce n'est pas ici la place d'insister sur ces questions qui ne pourront être résolues qu'après de patientes et longues recherches. Constatons seulement qu'un premier pas dans la bonne direction, s'il ne transporte pas au but, en rapproche apparemment.

Parler de la reproduction sexuée à propos de champignons supérieurs, c'est, nous le savons, faire acte d'indiscipline envers les représentants de certaine science officielle et de plus s'aventurer en terrain glissant où la chute est facile. Bien des fois, naguère, on a cru avoir élucidé le problème; quelques mycologues le tiennent pour résolu. Il y a bientôt trente ans une communication à l'Académie des sciences, après avoir constaté des anastomoses assez ordinaires entre filaments conidies et bâtonnets, se terminait par cette retentissante déclaration « que le mode de fécondation des basidyomicètes était pleinement démontré ». Quelques mois après, dans une autre communication, le même auteur avouait son erreur et reconnaissait la fausseté de ses conclusions. De

pareilles mésaventures rendent prudent. Nous ne voulons donc rien affirmer et encore moins entreprendre de polémique dans le présent ou dans l'avenir. Notre ambition est simplement de placer sous les yeux du lecteur, d'une part, les raisons qui portent à croire que la loi de reproduction sexuée ressort bien des faits observés, et, d'autre part, les arguments que l'on peut invoquer en sens contraire. Chacun établira sa conviction comme il l'entend. Seuls, les résultats pratiques d'une culture scientifique trancheront définitivement la question.

Voici nos raisons.

a) *Différenciation caractérisée des gamètes et forme de ces gamètes.*

b) *Attraction visible des gamètes l'une par l'autre, jusqu'au toucher.*

c) *Dépérissement et destruction rapide du germe mâle.*

d) *Possibilité d'expliquer par la loi de sexualité certaines anomalies singulières de la reproduction des champignons.*

e) *Enfin, difficulté d'expliquer autrement que par les phases d'une rénovation sexuelle les faits observés.*

Les arguments contraires sont les suivants :

α) *On a obtenu certains champignons des grandes espèces par développement asexué de spore unique sans aucune copulation rappelant de près ou de loin l'acte sexuel.*

β) *Les diverses phases de la copulation sexuée dans un grand nombre d'oomycètes (principalement ceux qui se reproduisent par isogamie à la façon des péronosporacés) diffèrent tellement de ce que vous décrivez qu'il est difficile d'admettre que la nature ait atteint un but identique par des moyens si différents. Dans les oomycètes la même spore engendre des gamètes de sexes différents ; dans les champignons dont vous parlez, la spore serait unisexuée.*

γ) *Vos observations ne s'accordent pas avec les principes de la fécondation sexuelle aujourd'hui admis, ni avec la fécondation sexuelle même des champignons supérieurs telle que l'auraient découverte certains botanistes contemporains.*

δ) *Nous avons cherché à contrôler vos observations, nous n'avons rien vu.*

ε) *Enfin les résultats pratiques manquent, donc, rien de certain.*

Examinons ces arguments pour et contre avec quelques détails dans l'ordre ci-dessus.

a) *Différenciation caractérisée des gamètes et forme de ces gamètes.*

La forme des gamètes est en effet si spéciale qu'elle éveille à première vue l'idée de fécondation. Le type mâle, malgré ses déformations, reste pointu, en forme de flèche. La femelle, nettement ronde en général, n'est pas à vrai dire une gamète puisqu'elle devient souvent l'œuf même et qu'elle paraît susceptible d'être fécondée sans contact immédiat, mais à travers un filament ou dans la spore même. En un mot, la forme, pour l'un et l'autre sexe, surtout dans certaines espèces, comme le Coprin, par exemple, est tout à fait caractéristique.

Assurément le jet secondaire qui sort des gamètes les déforme parfois et pourrait même faire croire à une germination qui serait un exemple de parthenogénèse dans notre système, mais il est aisé de voir que ces jets secondaires se terminent invariablement par une autre gamète plus petite que la première, et cherchant à féconder. Lorsque parfois la gamète femelle prend la forme tronconique, elle n'en conserve pas moins, semble-t-il, la faculté de produire un œuf à son extrémité ou sur son parcours. Les jets secondaires n'ont pas été observés dans toutes les espèces.

b) *Attraction externe et visible l'une par l'autre jusqu'au toucher.*

Cette attraction paraît si visible, si nette, qu'il est impossible de la comparer à des effets de polarisation, à des rapprochements végétatifs accidentels, à des anastomoses comme on en voit entre des filaments, ampoules et conidies voisins. Elle est franche, surmonte les obstacles, se fait sentir à travers l'épiderme du limbe, et s'exerce à des distances rela-

tivement considérables, par exemple de plus loin que le champ du microscope à 1×200.

Quant au tube de déversement qui servirait au mélange des protoplasmes, il faut avouer que nous ne l'avons pas aperçu. Ce qui doit tranquilliser, c'est que, alors même qu'il existerait, il serait impossible de le voir dans l'intérieur des spores et des gamètes ; la couleur de celles-ci empêcherait de le distinguer. C'est le cas, dans toutes les espèces que nous avons étudiées ; pour un grand nombre également l'extrême petitesse des spores et sporules femelles et des gamètes mâles rend toute observation de ce genre très aléatoire. Toujours est-il que jamais aucune cloison n'a paru exister entre gamètes ou spores comme il s'en voit, paraît-il, entre oogone et anthéridie dans certains ascomycètes (Sphœroteca Castagnei) qui accompliraient l'acte sexuel à la façon des Peronosporacés (1).

c) *Dépérissement et destruction rapide du germe mâle.*

Le dépérissement est rapide, surtout en été. Qu'il y ait eu ou non fécondation, la gamète s'effrite bientôt et il n'en reste plus que quelque poussière noire. Cette désorganisation de la gamète mâle, nous a laissé longtemps perplexe dans les débuts ; elle paraissait inexplicable et confondait les prévisions.

c) *Facilité d'expliquer par la loi de sexualité, telle qu'elle résulterait de nos recherches, certaines anomalies autrement incompréhensibles de la reproduction des champignons supérieurs.*

On comprend mieux, en admettant la sexualisation sur lit nuptial approprié et non ailleurs, pourquoi les champignons ne se multiplient pas indéfiniment au même endroit ou dans un rayon rapproché, malgré le nombre véritablement immense de spores contenues dans un seul sujet (2); pourquoi l'on voit apparaître à l'improviste des espèces nouvelles, ou

1. Dangeard, 7e série ; p. 119, *Le Botaniste*.

2. On évalue à plusieurs milliards le nombre des spores contenues dans un seul Lycoperdon, Vesce de Loup géante !

du moins absentes jusque-là dans des localités ou sous des bois où elles n'avaient jamais été vues ; pourquoi l'on n'a jamais pu faire germer, jusqu'à présent, certaines spores, dans les milieux nutritifs les plus appropriés en apparence et les plus fournis des éléments chimiques nécessaires à la nutrition. On comprend mieux pourquoi diverses variétés naissent de préférence sous tel ou tel arbre, surtout lorsque, comme pour la Truffe, cet arbre est presque le seul à garder des feuilles à l'époque de l'année où, le tubercule étant mûr, la dissémination des spores est plus facile et leur germination plus énergique.

Enfin, et ce n'est là qu'une pure supposition probablement sans valeur, le rôle obscur de certaines *conidies*, de ces cellules de formes variées, sortes de spores de seconde génération s'éclaircirait d'un jour nouveau. Les conidies que l'on rencontre en nombre immense dans les champignons inférieurs et plus rarement dans les champignons supérieurs de grande taille naissent, comme on sait, tantôt sur le thalle, comme pour le Coprin, l'Agaric velutipes, l'Agaric tendre, le Cyatre ; tantôt sur les filaments de l'appareil basidifère, comme pour la Fistuline, le Polypore sulfureux, l'Hydre hérisson ; tantôt enfin dans des cavités de formes variées comme pour les Pyrenomycètes, les Discomycètes, les Cenanges. Chez la plupart des grands champignons supérieurs, elles sont infertiles, ne continuent pas la plante ; beaucoup n'ont jamais germé dans les milieux nutritifs en apparence les plus favorables.

Ne pourrait-on, dès lors, les considérer comme des sous-spores, des états de repos de filament, attendant les circonstances favorables à leur développement *sexué ?* comme une sorte de bulbille sexuée incapable dans beaucoup d'espèces de continuer agamiquement la plante, mais capable de produire une plante nouvelle en se sexualisant, lorsque les circonstances sont favorables et sur lit nuptial approprié ?

Il est assez difficile de se procurer des conidies de grands champignons et plus difficile encore de les observer sur feuille

avec quelque certitude à cause de leur petitesse et de leur transparence. Mais d'après la théorie que nous venons d'énoncer, les spores de champignons obtenus par agamie, pourraient être physiologiquement assimilées à des conidies.

Nous avons ensemencé sur feuilles quelques-unes de ces spores de psalliotes champêtres cultivés, elles ont paru engendrer des gamètes sexués se fécondant suivant la règle ordinaire ; quant aux conidies transparentes d'autres champignons, l'observation sur feuille est, comme je l'ai dit, d'une telle difficulté que l'on ne peut rien conclure avec certitude. C'est le cas pour les conidies formées par les filaments de Morille, par agamie, dans les conditions difficiles à réaliser développées plus loin (v. p. 55). Ce qui est certain, c'est que ces conidies mise en terre *préparée,* par conséquent dans un milieu nutritif, n'ont rien produit après huit ans.

e) *Impossibilité d'expliquer autrement que par les phases d'une rénovation sexuelle les faits observés.*

Cette preuve bien que frisant la *reductio ad absurdum,* raisonnement si mal vu des mathématiciens et à juste titre, n'en conserve pas moins ici une certaine valeur.

A quoi serait bon, en effet, que pourrait bien signifier cette évolution singulière et bizarre des spores sur feuille, si elle ne résumait pas les phases de la rénovation sexuée de l'espèce ? On se le demande en vérité !

Après le pour, voici le contre, c'est-à-dire la série des arguments contraires énumérés page VII, et sur lesquels se basent ceux qui se refusent à reconnaître une germination sexuée ou même, le croirait-on, une germination quelconque dans les faits observés.

Ces arguments sont loin d'être sans valeur ; il en est auxquels il est difficile de répondre. D'autres ne méritent pas qu'on s'y arrête ; de ce nombre est le suivant :

α) *On a obtenu certains champignons des grandes espèces*

par développement asexué de spore unique sans aucune copulation rappelant de près ou de loin l'acte sexuel.

Témoins (par exemple) le champignon de couche qui vient de spores ou de blanc ; le Polypore tuberastre produit par amas solide de mycélium et de calcaire appelé *Pietra fungaia*, et le Tricholome nu récolté dans les conditions suivantes (1).

« Les cultures ont été obtenues dans des pots à fleur ou « dans des meules découvertes formées d'un mélange de « feuilles, fumier, etc., de consistance terreuse. Les fructifi- « cations sont nombreuses, mais restent le plus souvent à « l'état d'ébauche ; elles sont comme atrophiées ; seules « les meules fournissent quelques sujets comparables comme « aspect et comme dimension au Tricholome nu naturel. On « n'a obtenu ni conidies ni sclérotes. »

Ainsi les champignons se reproduisent sans fécondation nécessaire, donc, etc., etc.

Il est à peine utile de répondre.

Beaucoup de plantes se multiplient par bouture comme les peupliers, saules et platanes ; par racines ou rhizomes comme l'Olivier et le Nénuphar ; par feuilles comme le Begonia Gloxinia ; par cayeux ou bulbilles comme certaines Liliacées, les Aulx, les Hyacinthes, la Tulipe ; d'autres sont réfractaires à ces modes de propagation et ne se reproduisent que de semences.

Il en va ainsi des champignons supérieurs. Les uns naissent facilement de spores non fécondées, de blanc ou de débris de substance, comme ceux que l'on vient de nommer auxquels il convient d'ajouter le Mousseron, etc., etc., et paraît-il, la Truffe même, s'il faut en croire les expériences de M. Kiefer (v. page 39) ; expériences qui malheureusement n'ont jamais été recommencées avec succès, mais qu'un heureux chercheur fera peut-être aboutir un jour.

Les autres champignons, et c'est le plus grand nombre, ne

1. Comptes-rendus, Académie des sciences, 14 mars 1898.

peuvent pas être obtenus par ces procédés dans l'état actuel de nos connaissances ; ils viendraient de semence seulement.

De toutes façons, la reproduction ou plutôt la continuation de la plante par agamie pour quelques espèces, pour toutes mêmes, si cela était, n'aurait aucune importance dans le point en litige.

Il est même à remarquer que souvent le champignon, comme d'autres plantes, dégénère assez rapidement, même dans les milieux les plus favorables, lorsqu'il est obtenu de spores non fécondées ou de blanc. C'est le cas par exemple des Tricholomes nus et des Tricholomes terreux (voir ci-dessus) et des Coprins stercoraires, et autres du même genre (1).

Ce dépérissement n'est-il pas un argument en faveur d'un rajeunissement sexuel nécessaire de loin en loin et ne prouve-t-il pas ou ne fait-il pas présumer que la fécondation n'a pas lieu au sein du champignon même, dans les asques ou les basides, comme le prétendent d'éminents botanistes contemporains?

β) *Les diverses phases de la copulation sexuée dans un grand nombre d'oomycètes, principalement dans ceux qui se reproduisent par isogamie à la façon des péronosporacés, diffèrent tellement de ce que vous décrivez, qu'il est difficile d'admettre que la nature ait atteint un seul et même but par des moyens si différents. Dans les oomycètes, la même spore engendre des gamètes de sexes différents ; dans les champignons dont vous parlez, la spore serait unisexuée.*

On sait en effet que dans une catégorie entière de champignons inférieurs, l'ordre des oomycètes, les modes de propagation sexués et asexués coexistent simultanément ; c'est-à-dire que tantôt la plante se continue par le thalle simple issu d'une spore, d'une oospore ou d'une conidie, tantôt elle sort

1. La spore d'un Coprin stercoraire mesurant dix cent. de haut et cinq à six de large, ensemencée dans une infusion de crottin sur porte-objets, produit un autre Coprin de un ou deux cent. de haut et un demi de large ; et il en est souvent ainsi, par degrés suivant les milieux, avec tendance constante à la dégénérescence.

d'un œuf engendré par la rencontre, la fusion de filaments ou gamètes hétérogames et isogames (1).

Or il n'est pas douteux que si la fécondation hétérogamique par anthéridie présente un certain degré de ressemblance avec ce qui a été observé dans les fécondations sur feuille, par contre la production d'œufs par isogamie, fusions, conjugaisons en diffère singulièrement. En outre, dans les deux cas, il résulterait des recherches faites à ce sujet par les botanistes allemands, que la même spore ou la même conidie contient naturellement les deux sexes, puisque ceux-ci ne se différencient qu'après la germination, sur le thalle même issu de spore unique.

On arrive ainsi à cette double conclusion, peu conforme à l'idée d'uniformité, que la fécondation dans les champignons revêt, suivant les espèces, des formes très différentes, que pour les uns, la spore n'a qu'un sexe, pour les autres, elle en a deux.

La première de ces constatations n'a rien qui doive effrayer, puisqu'il était d'ores et déjà aisé de la faire en comparant entre eux les modes de fécondation admis pour les oomycètes mêmes, et que la théorie de fécondation sexuée admise pour ces champignons n'en a subi aucun accroc et subsiste quand même.

Si l'on admet en effet que les fusions nucléaires ou simplement protoplasmiques constatées dans les oomycètes à gamètes isogames, tels que mucorinés, chytridiacés, etc., représentent un acte sexuel, il faut reconnaître que cet acte diffère morphologiquement de ce qui se passe chez les oomycètes à gamètes hétérogames se copulant à la façon des péronosporacés, tout autant que de la copulation sur feuille des gamètes de certains basidiomycètes et ascomycètes. Ainsi l'objection se résoud d'elle-même.

Il est plus difficile d'accorder l'unisexualité des spores

1. Nous prenons ici, comme base de discussion, l'opinion admise que les fusions et conjugaisons nucléaires dans les oomycètes sont des copulations sexuelles, mais sous bénéfice bien entendu, des observations et des réserves faites à ce sujet dans les pages qui suivent (v. p. XVII).

d'un côté, avec, de l'autre, la bisexualité virtuelle telle qu'elle apparaît dans les dessins et les descriptions qui nous représentent la fécondation des oomycètes, tout au moins des oomycètes à gamètes isogames.

Nous savons pourtant que dans les organismes rudimentaires tels que les thallophytes en général, les gamètes différenciées ou non, issues de même spore, sont parfois absolument voisines dès l'origine, comme par exemple dans les Cladophores, l'Ulotriche, les Œdogones, la Spirogire, le Basidiobolus Ranarum, où elles sortent ensemble de la même spore et se copulent immédiatement. C'est une propriété de ces végétaux imparfaits que ce voisinage, cette confusion des germes ; mais comme cette confusion originelle fréquente chez les végétaux imparfaits devient plus rare au fur et à mesure de leur perfectionnement, elle pourrait ne pas exister dans les grands champignons supérieurs, sans que les règles de probabilité ou de similitude s'en trouvent violées. Entre l'Amanite et la Truffe par exemple et une moisissure, ou une levure, il n'y a de ressemblance que le thalle présent et la chlorophylle absente. Ces particularités étant prises comme bases de classification, on a réuni dans la même classe des végétaux différents, non seulement de forme et d'aspect, mais aussi sans doute à beaucoup d'autres points de vue.

Cela serait donc attribuer à la nomenclature un rôle exagéré que d'en conclure que les spores des uns doivent être de nature identique à celle des autres, d'autant plus que nous connaissons des végétaux moins dissemblables entre eux que les champignons, et qui cependant, sans cause apparente sont les uns monoïques comme les Pins, Sapins, Cyprès, les autres dioïques comme l'If, le Saule, le Chanvre ; tantôt mâles, tantôt femelles, tantôt hermaphrodite comme le Frêne, et avec fleurs, les uns unisexuées, les autres bisexuées.

Ceci dit pour constater la possibilité des variations physiologiques, reconnaissons que rien ne prouve l'unisexualité de la spore dans les espèces que nous avons étudiées. Certaines observations sur les spores de la Truffe tendraient

même à laisser le doute subsister (fig. 8). Toutefois comme on ne saurait regarder comme certain, pour la Truffe spécialement, à cause des débris qui couvrent le limbe, ce qui n'a pas été vu un grand nombre de fois, il paraît sage de ne pas se prononcer sur cette question de bisexualité ou d'unisexualité de la spore.

γ) *Vos observations ne s'accordent pas avec les principes de la fécondation sexuée aujourd'hui admis, ni avec la fécondation sexuelle même telle que l'auraient découverte des botanistes contemporains.*

La formule de la fécondation sexuée serait la suivante :

« Toujours et partout la rénovation sexuelle est précédée « d'une fusion en un seul de deux noyaux accompagnés de « leur protoplasme ; le noyau sexuel qui en résulte fournira « en se divisant le noyau de l'embryon ou des embryons. »

C'est en ces termes que l'a établie M. Dangeard, à la suite de ses études sur la fécondation sexuée, tant des champignons que des autres végétaux.

L'éminent professeur, que ses savantes et originales recherches ont placé dans les tout premiers rangs des botanistes modernes, croit trouver l'application de cette loi dans l'acte sexuel des champignons supérieurs qui s'accomplirait, selon lui, à l'intérieur des asques ou des basides. L'un et l'autre feraient ainsi fonction de *gametange*, en ce qu'ils renferment des noyaux sexués, des gamètes, qui fusionnant ensemble engendrent ou plutôt deviennent l'œuf d'où sortira la spore sur la baside ou dans l'asque.

Il est clair que cette théorie est en contradiction avec celle que nous proposons. Les deux ne peuvent se concilier. Comment admettre que, dans la vie d'une même plante, il y ait deux actes sexuels consécutifs résultant, l'un d'une fusion nucléaire, l'autre d'un accouplement sur substance appropriée dans les formes que nous décrivons. Il est tout aussi difficile de concevoir que l'un puisse suppléer à l'autre. Il y aurait alors pour les champignons, même en s'en tenant aux espèces qui se ressemblent, trois formes de copulations différentes,

l'une par fusion nucléaire, l'autre par anthéridie et ascogone, le troisième par accouplement sur substance appropriée. Cela serait beaucoup ; il semble que deux, c'est déjà trop.

Si donc, l'on reconnaît dans les accouplements sur feuille les phases d'une évolution sexuelle, il faut alors conclure que les fusions nucléaires ne sont que des phénomènes d'ordre végétatif, des anastomoses fortifiantes, un rajeunissement cytoplasmique. Et alors le plus simple n'est-il pas de se ranger à l'avis déjà exprimé par des botanistes dissidents et de penser avec eux « que la fusion nucléaire est un phénomène d'importance considérable dans la vie des champignons, mais non un acte sexuel ». Bien entendu nos observations n'ayant porté que sur certains ascomycètes et basidiomycètes proprement dits, d'autres basidiomycètes ou ascomycètes, les ustilaginés et urédinés, les champignons inférieurs peuvent être rangés à part. Pour ceux-là, on peut dire que la fusion nucléaire est le seul acte sexuel nécessaire.

Malheureusement il existe une ressemblance complète, à tous les points de vue, entre les fusions nucléaires qui s'opèrent dans les « gametanges » des champignons que nous avons étudiés (coprins, truffes, etc.) et les fusions nucléaires que l'on observe dans les urédinés, ustilaginés, protobasidiomycètes, etc...., si bien qu'il est difficile de reconnaître aux unes une portée physiologique que l'on n'admet pas chez les autres.

Je vais plus loin. En voyant la grande ressemblance qui existe également entre les fusions nucléaires des soi-disant « gamètes », dans les gametanges (asques et basides) des basidiomycètes et ascomycètes et celles de certains oomycètes se copulant à la façon des mucorinés, un doute vient à l'esprit, et l'on se demande si, pour ces dernières familles également, on n'a pas abusé des mots gamètes, œufs, fécondation. Évidemment ces questions ne sont pas définitivement résolues et de nouvelles recherches s'imposent.

δ) Nous avons cherché à contrôler vos observations et nous n'avons rien vu.

Rien vu! C'est beaucoup dire. Sans doute, l'observation n'est pas toujours facile, pour la Truffe spécialement, et il faut patience et habitude pour se reconnaître au milieu des spores, pseudo-spores, débris de tégument ou d'asque. Après avoir aperçu pour la première fois une spore germant en janvier, l'auteur est resté onze mois dans l'incertitude et absolument dérouté, malgré des observations presque quotidiennes. Ce n'est qu'en décembre suivant que la lumière s'est faite grâce à un concours exceptionnel de circonstances. Pour le Coprin, malgré le grand nombre de *manquants,* l'observation est facilitée par la propreté du limbe et l'absence de débris.

La qualité du champignon et surtout de la feuille a pour l'observation une importance capitale. On se heurte à des insuccès complets sans savoir pourquoi. Il n'y a qu'à recommencer. Les feuilles jaunies, desséchées, sont difficiles à examiner; ces dernières surtout sur les arbres un peu forts. Les nervures apparaissent trop ; la chlorophylle en se condensant forme des contours imperméables à la lumière. La feuille petite, verte, à limbe plat, permet seule de bien voir; on la trouve sur les chênes pubescents jeunes jusqu'en février. La feuille de sapin argenté est aussi assez commode, lorsqu'elle réussit.

Quelquefois les ensemencements n'ont pas été faits avec les garanties voulues. Un honorable correspondant se plaignait de ne rien apercevoir. Un peu pressé, il finit par reconnaître qu'il avait employé des truffes conservées en boîtes de métal d'après un procédé secret, c'est-à-dire des truffes passées à la vapeur et stérilisées!

D'autres fois, le sentiment domine. Un ancien forestier, M. Grimblot, devant le Congrès international de sylviculture, s'est vivement élevé contre nos prétendues découvertes. Il n'a d'ailleurs jamais cherché à contrôler l'exactitude de nos observations. Cela n'a pas lieu de surprendre. M. Grimblot a écrit autrefois sur la Truffe, et, par l'audace de ses affirmations, il montre bien que les révélations du microscope sont pour lui lettre morte. Ne va-t-il pas jusqu'à dire, *dans une bro-*

chure publiée en 1878, que la Truffe est « une excrétion radiculaire, d'abord liquide, puis gélatineuse, sorte de latex albumineux qui s'organiserait bientôt en Truffe (1) », et cela alors que les spores de ce champignon avaient été vues et dessinées, depuis cent cinquante ans, par Tournefort, Geoffroy, Micheli; que, depuis ce même temps, la nature fungique du tubercule ne faisait aucun doute pour les botanistes sérieux; alors enfin qu'un examen de trois minutes, avec un microscope d'enfant, convaincrait les plus incrédules! N'insistons pas et constatons seulement, sur un autre terrain, l'intérêt des expériences entreprises sous la direction de l'honorable forestier par le transport du mycélium truffier. M. Kiefer aurait autrefois réussi de cette façon dans une certaine mesure (voir p. 39); il serait à désirer que l'on connût une méthode scientifique pour user de ce procédé qui restera peut-être en fin de compte, pour les autres champignons comme pour la Truffe, le plus rapide et le plus sûr.

ε.) *Les résultats pratiques manquent, donc rien de fait.*

Malheureusement, dans ces sortes d'essais, les jours et les heures qui suffisent en chimie, physique et en bactériologie deviennent des années. Quant à la Truffe, il semble bien qu'avec un tour de main spécial, peut-être connu, peut-être inconnu, le succès n'est pas improbable; pour les autres champignons, le cycle de l'évolution souterraine paraît dépendre de conditions particulières incomplètement approfondies.

Il eût été plus sage, afin d'éviter la critique, de ne publier ce livre qu'après avoir obtenu des résultats concluants; je le reconnais; d'autre part, ces résultats peuvent être longs à venir et le meilleur moyen de les hâter n'est-il pas de mettre les Trufficulteurs en mesure de les provoquer eux-mêmes. Les longs et minutieux détails de l'ensemencement sur feuilles contenus au chapitre V, ont été précisément donnés afin de faciliter les expériences; c'est d'ailleurs le but du livre tout entier.

1. Études sur les Truffières du Vaucluse; Grimblot (1878).

Remarquons-le, en terminant, la nécessité d'une germination sexuée pour les thallophites a toujours été si bien admise en principe, que la discussion entre les botanistes porte non sur son existence, mais sur la manière dont elle se produit.

Sans parler des *oomycètes* qui doivent leur nom à ce fait que l'œuf s'y formerait à la suite de ce qu'on a appelé une *copulation*, on a cru successivement apercevoir les phases de l'acte sexuel sur le thalle de certains Pezises et de quelques Erysiphes, dans les spermaties d'espèces à spermogonies comme les Coprins, dans les scolecistes des Ascoboles, dans les cystides des Hymenomycètes, dans les macrocystes à globules qui se développent sur le thalle d'Agaricinées, enfin dans la fusion des noyaux contenus dans les basides et asques (ou gametanges) des Basidiomycètes et Ascomycètes ; mais presque toujours les trois caractères de la fécondation, confusion de protoplasmes, permanence de l'œuf, dépérissement du germe mâle ne se trouvaient pas réunis, ou bien l'uniformité, la généralité et la constance des phénomènes faisaient défaut. Pour ces raisons et pour d'autres, un éminent professeur, après avoir plusieurs fois changé d'avis sur la matière, écrivait en 1891 (1) :

« Ou bien ces plantes ont toujours été incapables de produire des œufs, elles sont agames de leur nature. Ou bien, douées autrefois de sexualité, elles ont perdu sans retour la faculté de produire des œufs. Ou bien elles sont douées de sexualité, mais ne forment leurs œufs qu'à de rares intervalles, dans des conditions de milieu toutes spéciales ; il en résulte que ces œufs ont échappé aux observations, et leur découverte est réservée aux efforts de l'avenir. » (VAN TIEGHEM, *Traité de Botanique*.)

Ainsi, proposer une théorie pour la fécondation sexuée des champignons, c'est chercher à combler une lacune, ce n'est pas introduire une nouveauté.

1. VAN TIEGHEM, *Traité de Botanique*.

CHAPITRE PREMIER

LA TRUFFE

Origines attribuées à la Truffe dans les temps anciens et modernes. Temps anciens, de 350 avant Jésus-Christ au milieu du xve siècle; temps modernes, du milieu du xve siècle à nos jours.

A tout seigneur tout honneur. Nous commencerons donc par la Truffe, le premier, sans contredit, dans l'espèce fungique.

On m'excusera de consacrer au début quelques pages aux opinions qui ont eu cours à différentes époques sur l'origine de ce champignon ; cet aperçu historique rentre en quelque sorte dans notre sujet, en ce qu'il permet de mesurer la voie parcourue et les progrès accomplis.

Théophraste, disciple d'Aristote, parle pour la première fois des truffes, 350 ans avant J.-C., et les appelle « des végétaux privés de racines qu'engendrent les pluies d'automne accompagnées de coups de tonnerre ».

Quatre siècles plus tard, Dioscoride les qualifie de « racines tubéreuses que la terre produit et arrondit en soi par une vertu secrète ».

Athénée, puis Cicéron les regardent comme des « enfants de la terre, production spontanée du sol ». Pour Porphyre, elles sont des « enfants des Dieux » ; pour le naturaliste Pline, « des callosités de la terre, miracles de la nature ».

Juvénal, Plutarque, les considèrent comme « un produit de la foudre et des orages », opinion évidemment fausse mais basée sur une observation exacte, car il est constant

que les pluies d'orage, surtout en juillet, favorisent la production des truffières.

Néandre écrit en 1499 « qu'elles sont faites du limon de la terre modifié par la chaleur centrale ». Encelius, qu'elles sont formées « de la pituite des arbres ». Ceccarelli pense qu'elles naissent dans le sol à la suite de la chaleur putride développée par les orages. Ce lettré, l'un des plus illustres du XVIe siècle, s'exprime ainsi :

« La propriété de la terre, préparée par la chaleur du « soleil, mise en action par les tonnerres et les pluies qui « déterminent une chaleur putride, donne naissance aux « Truffes. Par la raison des contraires, lorsque la chaleur « cuit la matière froide, humide et tenue, il en résulte des « germes sans racines, c'est ce que nous appelons des « champignons. »

Et plus loin :

« Il existe cinq éléments dans la Truffe : l'écorce, la « pulpe, l'humidité, l'odeur et la couleur. L'écorce est formée « par la terre puisqu'elle provient du froid et du sec ; la pulpe « a deux parties, l'une crasse, l'autre ténue : la crasse vient « de la terre, la ténue de l'air ; l'humidité vient de l'eau ; « l'odeur et la couleur du feu. L'ensemble concourt à la « génération des Truffes (1). »

Dans tous ces cas il s'agit, sans doute, non de la Truffe du Périgord, ou *Tuber melanosporum,* mais des variétés diverses que l'on récolte en Italie et en Grèce.

Du XVIe siècle au commencement du XVIIIe, c'est-à-dire, pendant un intervalle d'environ cent ans, il n'est rien écrit de nouveau sur l'origine des Truffes : et, cependant, leur succès gastronomique va grandissant et se généralisant.

C'est en 1711, avec le botaniste Tournefort, que recommencent les recherches scientifiques sur la nature de ces tubercules, recherches dès lors conduites avec méthode et précision, mais néanmoins délicates et sujettes à caution,

1. Conférence sur la Trufficulture, par A. de Bosredon.

puisqu'elles sont faites avec l'aide d'une simple loupe très imparfaite et de faible grossissement.

Le microscope apparaît alors, et avec lui, nous entrons dans ce qu'on peut appeler, pour notre sujet, la période moderne.

A l'aide de cet instrument, Geoffroy, Micheli et d'autres, reprenant les recherches antérieures, ne tardent pas à découvrir, à décrire et à dessiner les vésicules ou asques, contenant chacun de une à quatre spores improprement appelées Truffinelles, dont la réunion en masse forme la presque totalité de la pulpe truffière. La semence est trouvée ; la Truffe est un végétal, *un champignon.*

Temps modernes du milieu du XIXe siècle à nos jours. — Il semble qu'à la suite de ces constatations la nature fungique de la Truffe ne devrait faire doute pour personne. Il est loin d'en être ainsi cependant. Beaucoup de trufficulteurs continuent à nier, et leurs arguments, il faut le reconnaître, ne sont pas sans valeur.

« Si la Truffe est un champignon, disent-ils, si les points « noirs que vous avez découverts sont des semences, mon- « trez-nous une germination, faites-voir le mycélium, le blanc « ou système radiculaire d'où sort le champignon. »

Or jamais, malgré d'innombrables essais, on n'avait vu germer une spore de truffe. Quant au mycélium, quelques botanistes ont cru l'apercevoir, mais rien de sûr à cet égard. Pour les uns, il serait incolore ; pour les autres, brun. Pour les uns, il adhérerait aux racines ; pour les autres, il en serait complètement indépendant, etc., etc.

En réalité ce sont là des hypothèses. A part quelques fibrilles longues de trois ou quatre millimètres et adhérentes au péridium, on n'a rien vu en terre ou sur racines qui puisse être qualifié, avec apparence de certitude, de mycélium truffier (1).

1. Si l'on en juge par la germination de l'œuf, le mycélium truffier serait d'une ténuité telle qu'il est impossible de l'apercevoir.

Il faudrait donc admettre que le mycélium disparaît avant la maturité du tubercule. « La Truffette arrivée à la grosseur « d'un pois, c'est-à-dire trois mois avant d'être mûre, se « dépouille de tout feutrage mycélien et grossit par ses « seules forces, d'après un mécanisme inconnu. » Cette opinion compte de nombreux adhérents.

« Mais alors, objecte-t-on, vous supposez que la nature, « après avoir mis en œuvre une organisation mycélienne « étendue et compliquée, la Truffière en un mot, pour pro- « duire un embryon gros comme un pois, l'abandonne en ce « moment, nu et sans organes d'absorption ; alors qu'il doit « en trois mois centupler de volume (1) ! C'est bien invrai- « semblable ! »

Devant ces doutes et ces difficultés, faut-il s'étonner si, jusque dans ces derniers temps, d'habiles trufficulteurs, vivant en plein pays truffier, ont cherché à la formation des truffes d'autres explications que celles de la reproduction par spores.

Quoi qu'il en soit, aujourd'hui, la question paraît résolue et les diverses hypothèses admises depuis Tournefort et Geoffroy n'ont plus qu'un intérêt historique. Nous les résumerons donc brièvement par ordre chronologique.

1740-1800. — Bulliard et Walson : les truffes seraient des végétaux vivipares ; les spores sont vivantes et animées.

1833-1857. — MM. Et. Bonnet et Martin-Ravel professent la théorie de la mouche truffière. Piquée par une de ces mouches, au printemps, la racine excrète un suc laiteux qui se concrète, se solidifie et devient truffe.

1867-1868. — Pour M. de Bressy, les truffes sont champignons parasites des racines. La lune aurait une grande influence sur leur évolution qui serait de trente jours, comme

1. L'anatomie ne montre dans le péridium de la Truffe ni pores corticales ni vaisseaux servant à la circulation.

la période lunaire. A la pleine lune la maturité serait à son apogée.

1862-1871. — L'abbé Charvat, curé de Réauville, l'un des fondateurs de la Trufficulture dans la Drôme, pense que la Truffe est produite « par une sorte d'exsudation des rameaux et des feuilles tombant sur le sol », conclusion fausse assurément, mais tirée d'observations rigoureusement exactes et précises.

Nous ne pouvons nous dispenser de citer en entier le passage dans lequel l'abbé Charvat explique et justifie son opinion ; on le dirait écrit après coup et simplement à l'appui de nos propres constatations sur l'origine des Truffières.

« J'ai observé, écrit l'abbé Charvat, j'ai interrogé beau-« coup de monde, tout ce que j'ai vu et entendu m'a fait « rejeter la théorie de la mouche, du mycélium, des sémi-« nules et des racines, et m'a conduit forcément à conclure « que le principe générateur de la Truffe *vient des branches*. « Un gros arbre truffier produit des Truffes à une distance « proportionnée au rayon de ses branches, loin du tronc, « cela veut dire... Ainsi les branches sont étendues, les « Truffes sont loin; les branches disparaissent (si on les « coupe), les Truffes disparaissent; les branches reviennent, « les Truffes reviennent. Donc la présence et l'absence, l'âge « et la mesure des branches règlent, modifient la germination « et le siège des Truffes ; donc les Truffes sont dans la dépen-« dance des branches. Que me reste-t-il à dire, sinon que la « semence de la Truffe est fournie par les branches ? — C'est « un fait constant que les branches des arbres produisent les « fruits et la semence, et que les racines nourrissent le tout : « pourquoi l'arbre truffier ne serait-il pas soumis à cette loi « générale ? Donc le germe des Truffes vient des branches, « non des racines, ou de toute autre cause. Mais quel est ce « germe ? J'ai observé des chênes truffiers d'assez près et en « toute saison et je n'y ai rien vu, rien de granuliforme, ni « gousse... rien que l'on puisse prendre pour une semence ;

« j'ai remarqué seulement sur les branches et rameaux une « *efflorescence* ou poussière cendrée, comparable à la poussière qui couvre les prunes et les raisins, mais plus adhé- « rente à l'écorce. Les rosées, les pluies ne pourraient-elles « délayer cette poussière ténue et l'entraîner dans le sol? Une « fois en terre et imbibée de fraîcheur, quelle difficulté ver- « rait-on à ce que cette matière devint le germe et le rudi- « ment de la Truffe? Le pollen des fleurs n'est qu'une pous- « sière, mais n'est-il pas une poussière vivante?

« Les vents ne pourraient-ils détacher ces molécules en « temps sec et les éparpiller sur la terre, ou les emporter « dans des gouttes d'eau, en temps de pluie, à des distances « éloignées?... — Le germe de la Truffe, venant, selon toute « apparence, des branches de l'arbre, tombe de lui-même « lorsqu'il est mûr, ou bien il est entraîné par les agents de « la nature; une fois dans ces conditions de végétation, il se « nourrit comme tous les germes vivants, s'organise, s'en- « toure de papilles ou suçoirs et aspire les sucs qui sont près « de lui. Plus je vais et plus je vois que le germe de la « Truffe vient des branches, des rameaux et des feuilles. »

L'abbé Charvat a côtoyé la vérité d'aussi près que possible, il ne lui a peut-être manqué qu'un microscope pour réussir.

1874-1878. — J. de Valserre reprend et soutient avec conviction la théorie de la mouche truffigène, opinion que partagent encore nombre de trufficulteurs et que semble préconiser le *Dictionnaire de Larousse.*

1878-1892. — Pour M. Grimblot, longtemps inspecteur des forêts dans le Vaucluse, la Truffe est produite « par une « excrétion radiculaire d'abord liquide, puis gélatineuse, « sorte de latex albumineux qui s'organiserait bientôt en « truffe ». Cette opinion fut ensuite abandonnée par son auteur devenu partisan de la nature fungique de la truffe.

Enfin, d'après M. Lasaveldat, grand négociant en truffes

du Périgord, « ces tubercules s'engendrent dans tous les « sols favorables sous l'influence de la chaleur et de l'humi- « dité déterminant une fermentation. La Truffe se forme « d'abord profondément dans les entrailles de la terre, puis « elle remonte peu à peu vers la surface ; les arbres n'en « favorisent le développement que par leur ombre, etc. »

Rappelons, avant de clore ce chapitre, ce que nous avons dit en commençant. Depuis la fin du XVIII[e] siècle, époque à laquelle la botanique s'est constituée en science par la distinction des plantes dans leurs caractères propres et l'établissement des grandes divisions naturelles, la nature fungique de la truffe n'est plus sérieusement mise en question par le monde savant, malgré les hypothèses contraires que nous avons rapportées.

La Truffe est donc un champignon, c'est un point acquis. Mais lorsqu'il s'agit de savoir si le mycélium de ce champignon est ou n'est pas parasite (1), le désaccord recommence.

Il faut avouer que la question n'est pas facile à résoudre. Les recherches faites sur différents tubéracés, tels qu'Elaphomicès, truffes jaunes, etc., etc., tendraient bien à établir une certaine corrélation entre l'existence en terre du mycélium de ces champignons et l'état des racines, mais la continuité entre le mycélium aperçu sur les racines et celui de ces champignons et notamment de la *Tuber melanosporum* n'a pas été observée de façon certaine.

Il est également connu que le gazon et les plantes adventices dépérissent au-dessus des truffières, ce qui donne à penser que celles-ci se nourrissent de leurs sucs ; mais, d'autre part, il résulte de témoignages dignes de foi que des truffes ont été récoltées, dans des cas rares mais dûment constatés, loin de tout chêne ou arbre quelconque.

1. Un champignon est parasite lorsqu'il vit aux dépens des tissus organiques vivants; il est non parasite on saprophite lorsqu'il se développe sur des corps déjà malades ou en voie de décomposition. Si la Truffière est parasite, elle *se nourrit* avec les racines d'arbres ou d'herbes environnantes ; si elle ne l'est pas, elle n'a aucun lien *nécessaire* avec ces racines et par conséquent peut s'en passer.

Que conclure de tout cela? À notre avis, que le mycélium truffier, tout en étant volontiers parasite des racines d'arbre dans lesquelles il trouve une nourriture qui lui manque ailleurs, peut néanmoins se passer des racines s'il trouve à s'alimenter d'autre façon ; qu'il est donc parasite, mais non parasite nécessaire de ces racines, ou peut-être parasite et saprophite en même temps.

CHAPITRE II

Description de la Truffe. — Conditions de germination des spores. Agents de transport. — La feuille est-elle nécessaire?

Description de la Truffe. — Si l'on coupe en deux une Truffe du Périgord, on voit à l'intérieur une masse ou glèbe compacte, d'un noir brunâtre, sillonnée de veines blanches. La couche extérieure est mince, dure, verruqueuse.

Les veines blanches ne sont autre chose que des canaux aérifères destinés à faire circuler l'air jusque dans l'intérieur de la masse ou glèbe, qui peut ainsi se former et mûrir en même temps que les couches extérieures.

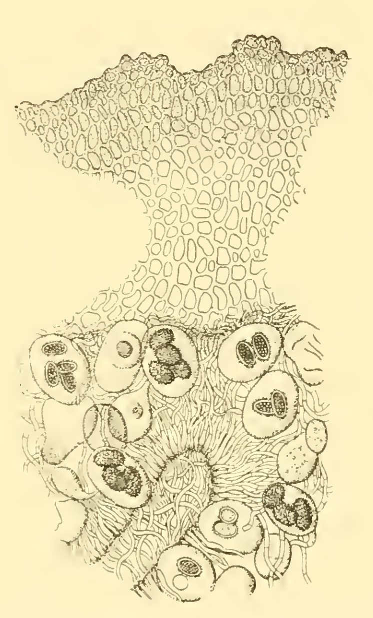


Fig. 1. — Coupe d'une portion de *Tuber melanosporum* d'après Tulasne.

Prenons une section de glèbe confinant à l'extérieur et examinons-la avec un grossissement de 150 à 200. Nous apercevrons (fig. 1) d'abord le péridium ou enveloppe rugueuse extérieure, formé de cellules indépendantes sans vie; puis, au-dessous, un amas de filaments transparents, cloisonnés, dont les uns sont restés stériles et les autres, fructifères, forment de petits sacs transparents au milieu desquels nagent de une à quatre spores (fig. 2).

Ces spores improprement appelées Truffinelles par les

botanistes qui les ont décrites pour la première fois, sont ovales, d'un brun plus ou moins foncé, hérissées de papilles sur toute leur surface.

La Truffe qui vient d'être décrite est la Truffe du Périgord ou *Tuber melanosporum ;* mais il en existe un grand nombre d'autres, différentes de celle-ci par l'enveloppe plus ou moins verruqueuse, quelquefois lisse ; par la couleur qui est parfois grise ou blanche ; par le nombre des spores contenues dans chaque asque ; par la forme même de ces spores qui peuvent être rondes, lisses, réticulées-alvéolées, dépourvues de papilles ; par l'odeur enfin, le goût, l'époque de maturité, l'habitat.





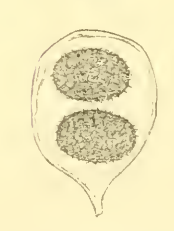


Fig. 2. — Asques de la Truffe du Périgord, avec leurs spores.

Ainsi, la Truffe de Bourgogne, fort inférieure, comme on sait, à la Truffe du Périgord, en diffère au point de vue botanique par les spores qui sont alvéolées et garnies de papilles recourbées en crochet à leur extrémité ainsi que par l'époque plus hâtive de sa maturité. La Truffe d'été, si répandue en France, que l'on trouve dans les charmilles, sous les hêtres, etc., se distingue par la couleur jaunâtre de sa glèbe, le moins grand nombre de spores, l'absence d'arôme, etc., etc.

La Truffe d'Italie, ou truffe à l'ail, est blanche, à enveloppe lisse, à spores alvéolées-réticulées, blanches et transparentes ; son arôme est pénétrant.

Malgré ces différences de détails, l'ensemble de la constitution des Truffes est naturellement partout le même et répond d'une manière générale à ce que montre la figure (1).

Conditions de germination des spores. — Les spores contenues dans les asques arrivent à maturité presque

toutes en même temps ; mais alors même qu'elles sont mûres, elles ne germent ni dans leur asque ni au dehors et mises en terre. Pour germer il faut qu'elles aient été extraites de leur asque et transportées sur la substance propre à leur évolution, et cette substance n'est autre que le limbe des feuilles de certains arbres, tels que chênes, noisetiers, conifères (sapins argentés), etc. Les expériences tentées sur ces espèces ont donné des résultats satisfaisants, mais il est probable que l'on réussirait également sur d'autres feuilles. La nervure centrale ou son voisinage paraissent être l'endroit le plus favorable.

Sur chênes, noisetiers, etc..., les spores se fixent sans difficultés, grâce aux papilles de leur tégument ; sur conifères, il semble que les exsudations de la surface du limbe facilitent l'adhérence.

Il se passe sans doute quelque chose d'analogue pour les Terfas ou truffes d'Afrique que l'on récolte sous les Hélianthèmes ou près des Cistes, arbustes dont la feuille, même en pleine chaleur, est humectée et visqueuse ; il paraît vraisemblable que la feuille de Ciste joue envers les spores de Terfas un rôle pareil à celui que remplissent les feuilles de nos arbres vis-à-vis de la truffe du Périgord.

Il n'est pas nécessaire que la feuille soit encore verte ou attachée à l'arbre pour être un substratum propice à la germination. J'ai vu des spores germer sur feuilles de chêne sèches vieilles d'une année et conservées tout ce temps dans un tiroir. Remarquons, d'ailleurs, qu'il n'est pas de moment plus favorable pour l'ensemencement sur feuille que le mois de décembre. C'est alors que la germination est à son maximum d'énergie. Or, à cette époque, les feuilles de chêne sont jaunies et desséchées. Le fait qu'elles demeurent attachées à l'arbre et qu'elles peuvent y rester encore jusqu'en mars ne change rien à leur état physiologique. Cet état est, dès lors, en tout semblable à ce qu'il sera une année, deux années plus tard, si la feuille est conservée à l'abri de la pourriture.

Il m'est arrivé une fois ou deux, sur un très grand nombre d'observations, de voir la spore germer sur poil.

Pour obtenir des germinations rapides, la date de l'ensemencement des spores sur limbe n'est pas indifférente. Nous reviendrons sur ce point ainsi que sur le plus ou moins de facilité que présentent les diverses feuilles à l'évolution des germes.

Remarquons en passant que la Truffe n'est pas le seul champignon dont la spore ait besoin, pour reproduire l'espèce, d'être transportée, dans la suite de son développement, sur une ou plusieurs substances différentes.

Ainsi la rouille du blé ou *Puccinie du gramen,* moisissure parasite bien connue des cultivateurs, ne saurait fructifier indéfiniment sur le blé seul, et l'épine-vinette *paraît être nécessaire* pour la phase la plus importante de son développement.

Le blé suffit bien pendant l'été à ces générations indéfinies de spores rougeâtres qu'on appelle rouille commune, mais vienne l'arrière-saison, et ces spores rouges cèdent peu à peu la place à des spores noires et cloisonnées, la rouille noire des cultivateurs. Ces dernières émettent à leur tour des filaments terminés par de très petites spores claires qui se multiplient en grand nombre. Extrêmement légères ces sporules sont enlevées par le vent et dispersées aux alentours, mais elles ne germeront que sur l'épine-vinette, sur l'épine-vinette seulement; et là, sur ce terrain favorable, à la suite d'une évolution compliquée et intéressante, elles engendreront d'autres spores qui, ramenées par le vent sur le blé, produiront la rouille commune, la rouille noire, et ainsi de suite.

Par conséquent « supprimez l'épine-vinette dans le voisi- « nage d'un champ de blé, vous supprimez la rouille », de même que l'on dit : « plus d'arbres plus de truffes ». Un autre exemple de génération alternante nous est donné par l'ergot de seigle dont une génération se produit sur grain et l'autre nécessairement sur la terre humide (1).

1. On a mis en doute les générations alternantes de la rouille et des autres champignons similaires ou plutôt on a nié la loi de cette alternance telle qu'elle avait été d'abord formulée. Ainsi, pour la rouille, d'autres plantes pourraient remplacer l'épine-vinette. Ceci prouverait qu'on a trop généralisé des observations justes. De ce que l'épine-vinette paraît être en certains cas

Les champignons à génération alternante sur substances différentes sont dits hétéroïques. La Truffe serait donc un champignon hétéroïque et, j'ajouterai, parasite nécessaire de certaines feuilles pendant la phase extérieure de son évolution et hétérogame.

Agents de transport. — La spore de Truffe a donc besoin, pour germer, d'entrer en contact hors de son asque ou, tout au moins à travers l'asque, avec le limbe de certaines feuilles. Comment la spore est-elle transportée de la terre où elle se trouve enfouie à cinq ou dix centimètres de profondeur jusqu'à la feuille? Par les insectes dits tubérivores.

Ce rôle des insectes n'a rien de surprenant : souvent dans la nature, mouches, abeilles, papillons, etc., servent de véhicules et immense est le nombre des plantes qu'ils fécondent en apportant au stigmate le pollen étranger.

Quels sont ces insectes; quels sont leurs mœurs, leur habitat? Ces questions ont été maintes fois traitées avec grande compétence par des trufficulteurs et des entomologistes, alors que les uns et les autres discutaient la théorie de la mouche truffigène. Témoins les écrits de Valserre, de Bonnet et de Martin-Ravel. Le docteur Laboulbène leur a notamment consacré, dans les *Annales de la Société entomologique de France,* une étude très complète accompagnée de fort belles planches.

Malgré l'intérêt du sujet, nous ne pouvons, par crainte d'allonger indéfiniment ce chapitre, le traiter en détail. Résumant donc en quelques lignes les travaux antérieurs, nous dirons simplement que les insectes tubérivores sont de plusieurs espèces : Diptères, Coléoptères, Lépidoptères ou papillons, et Myriapodes. En fait le principal rôle pour la pro-

nécessaire, il ne s'en suit pas qu'elle le soit toujours. Rien ne prouve que la rouille, avec cette faculté d'adaptation propre aux champignons ne puisse à défaut d'épine-vinette se contenter d'un autre végétal. L'hétœrecie en soi ne peut être niée. Pour la truffe, tout en reconnaissant que telles ou telles feuilles sont quant à présent nécessaires, rien ne pouvant, à notre connaissance, les remplacer, il paraît raisonnable de ne pas ériger en loi leur indispensabilité.

duction truffière paraît appartenir à un coléoptère l'*Anisotoma cinnanomea* et, surtout, aux mouches tubérivores *Helomyza tuberivora* ou *Helomiza lineata* et à quelques autres Helomiza peu différentes de celles-ci (fig. 3).

Ces mouches, d'un brun jaunâtre, voltigent par groupes au-dessus des truffières, principalement le soir et le matin, et ne servent que trop souvent à indiquer le bon endroit aux braconniers du pays.

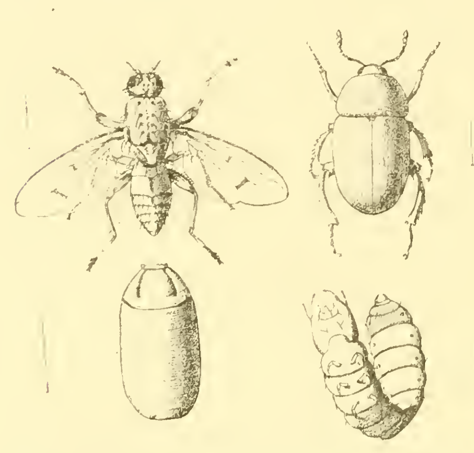


Fig. 3. — *Helomyza tuberivora* et sa pupe. — *Anisotoma cinnamomea* et sa larve. (Les traits indiquent la vraie grandeur.)

Mouches et coléoptères déposent leurs œufs dans l'intérieur des truffes mûres en hiver : les larves s'y forment, s'y développent, triturant et mangeant ce qui est à leur portée jusqu'à leur transformation en pupe ; enfin l'insecte parfait sort trois mois après, de mai à juin.

En septembre, apparaît une seconde génération de ces mouches; celles-ci vivent jusqu'en hiver.

En réalité, si l'on considère l'ensemble de *tous* les insectes tubérivores, on peut dire qu'il en est de vivants pendant toute l'année sans exception.

On trouve naturellement les mouches truffières en plus grand nombre dans les pays truffiers, par conséquent, dans le midi de la France : mais il s'en rencontre un peu partout du moins jusqu'à la latitude de Paris. J'en ai recueilli dans la Sarthe assez facilement en 1896, très difficilement en 1897. On en voit en Seine, en Seine-et-Oise. Climat à part, cela n'a rien d'étonnant, car ces insectes dits tubérivores, à défaut de truffes, se nourrissent fort bien d'autres

champignons en décomposition tels que Bolets, Agarics, Phallus, etc., etc.

C'est en sortant de la truffe après avoir déposé ses œufs, ou bien comme insecte parfait, ou bien encore simplement après un repas, que la mouche emporte, adhérant à ses pattes et à ses ailes, des spores sorties de leurs asques; absolument comme s'attachent à nos vêtements les involucres pointues des châtaignes lorsque nous marchons dans une châtaigneraie.

J'ai observé des mouches truffières sortant de leur pupe conservée et mûrie dans une truffe pourrie; j'en ai observé d'autres que l'on avait laissées quelque temps en présence de truffes dont elles avaient mangé, toutes portaient des spores sur leurs pattes et sur leurs ailes.

On peut se demander si les insectes tubérivores n'avalent pas les spores pour les transporter ainsi dans l'intérieur du corps et les déposer non digérées, avec leurs excréments, sur la substance favorable.

Cette hypothèse n'est pas vraisemblable pour plusieurs raisons : 1° On n'a jamais vu de mouches tubérivores manger des *spores* de *Tuber melanosporum;* celles-ci avec leurs pointes paraissent les dégoûter absolument. Quant aux mouches à viande, même de la plus grosse espèce, elles meurent de faim devant un morceau de truffe plutôt que d'y goûter; 2° On n'a pas observé de spores dans les excréments des mouches, et d'ailleurs le tube intestinal de ces diptères est beaucoup trop étroit pour leur livrer passage.

Il existe bien des variétés de mouches, principalement les Syrphides, qui consomment les spores des agarics; mais, d'après Cooke, « les spores que l'on retrouve dans les intes-
« tins de ces insectes, dans un état parfait en apparence, sont
« en réalité tout à fait altérées et impropres à germer ».
(Cooke et Berkley) (1).

1. Il est difficile de s'associer à cette manière de voir pour toutes les spores sans exception. Pour les psalliotes notamment, le contraire paraît avoir été observé. Aussi en constatant l'impossibilité naturelle pour les mouches truffières d'avaler une spore de truffe dans son entier, ne faut-il

Nous venons de voir quels sont les agents vraisemblablement employés par la nature pour transporter les spores de la terre à la feuille; mais les asques ou sacs dans lesquels sont, à l'origine, enfermées les spores, comment sont-ils percés, détruits? comment le contenu est-il mis en liberté? Par les mandibules des insectes tubérivores et de leurs larves, et aussi, comme nous le verrons plus tard, par pourriture ou fermentation.

Mais enfin, dira-t-on, le contact entre les spores et la feuille ne peut-il être établi autrement que par les insectes? C'est assurément possible.

Les limaces, les rats, les grands animaux tubérivores peuvent jouer, dans ce cas, un certain rôle. Il peut se faire que la feuille enfouie vienne à toucher par hasard des spores mises en liberté ou que celles-ci soient ramenées à la surface, jusqu'à la feuille, par les lombrics ou vers de terre. Il se passerait là ce que Pasteur, Feltz et d'autres ont observé pour les bacilles du charbon revenant à la surface après un temps, grâce aux vers de terre qui avalent dans les profondeurs du sol des parcelles de terre pour en retirer les substances nutritives qu'elles contiennent et les rendent à la surface sous forme de petits cylindres diversement contournés.

Ces hypothèses paraissent invraisemblables.

Les spores déposés sur le limbe s'enracinent-elles? nous ne le croyons pas. L'observation directe est difficile, mais en examinant de près les cas très rares de germination sur poil qui se sont présentés, j'ai remarqué que l'adhérence *paraissait* se faire par simple contact du tégument ou des papilles.

Il est possible que le même mode d'attache joigne la spore à l'épiderme, car il ne faudrait pas considérer comme racines les filaments qui percent le parenchyme et se terminent par des pseudo-spores; ce sont les fructifications.

pas conclure que ces mouches ne puissent avaler ce que nous appelons l'œuf, venu sur feuille, bien que l'hypothèse de ce double transport paraisse invraisemblable.

Quelquefois, autour d'une spore ayant germé, on aperçoit comme une dépression ombilicale principalement sur les feuilles de conifères, sapin argenté, etc., dont la peau est lisse et tendue; mais de racines proprement dites, je n'en ai point observé. Cette absence de racines expliquerait pourquoi, après quelques semaines, lorsque l'évolution est complète, les spores tombent facilement sans laisser de trace, ce qui, soit dit en passant, rend l'observation incertaine sur feuilles ensemencées depuis un certain temps et exposées aux intempéries de l'air extérieur.

La feuille est-elle nécessaire ? — On est tenté ici de poser une question : « Sans doute la spore de Truffe germe sur feuille, mais la *feuille* est-elle *nécessaire,* n'existe-t-il pas d'autres substances susceptibles de la remplacer ? »

Nous répondrons que s'il existe d'autres substances propres à la germination, jusqu'ici, malgré d'innombrables recherches justifiées par l'importance du sujet, il n'a pas été possible de les trouver.

On a ensemencé les spores de la Truffe sur racines, sur lichens, sur pommes de terre, sur gélatine, sur tanin, on a essayé de les cultiver dans la liqueur de Pasteur, le liquide de Raulin, des décoctions, des infusions de toutes sortes; moi-même j'ai tenté l'expérience sur quantité de matières : le jus de feuille, la feuille hachée et broyée, le râclage de la surface du limbe, la sève de l'écorce, le suc des racines ont été essayés ; d'éminents botanistes se sont mis de la partie, mais les résultats ont été toujours et partout absolument négatifs. Jusqu'à présent donc, la feuille paraît nécessaire (1).

1. S'il était permis de risquer une théorie à propos de la germination sur feuille, je dirais que la spore trouve sur le limbe un double principe ; l'un à la surface, une sorte d'exsudation, de dépôt qui percerait l'épiderme ; l'autre, intérieur, qui entretient la germination. Afin de donner à cette manière de voir une apparence de plausibilité, il faut citer le fait qu'à plusieurs reprises des feuilles lavées avant ensemencement en hiver ont donné de mauvais résultats ; les spores tombaient sans se fixer.

CHAPITRE III

Germination et fécondation des spores. — Délais. — Observations sur la fécondation.

Peu de temps après avoir été déposée sur le limbe, la spore germe. Les époques favorables sont le mois de mai et surtout novembre-décembre-janvier.

Elle émet un filament épais transparent, terminé par une pseudo-spore généralement lisse au début, grosse, couleur brun-clair ou ambre. La marche de ce filament est le plus souvent sous-épidermique ; il s'enfonce dans la feuille au sortir de la spore et apparaît à petite distance terminé par sa pseudo-spore. Souvent comme obéissant à une loi d'attraction, celle-ci émerge près d'une spore femelle qu'elle touche et féconde (*b*, pl. I et *c*, pl. II). Si aucune spore femelle ne se trouve dans le voisinage, la pseudo-spore mâle peut se dessécher et périr, mais elle peut aussi émettre un, deux ou plusieurs jets secondaires (*c*, *d*, *e*, pl. II) terminés également par des pseudo-spores plus petites que la première qui vont, comme la première, à la recherche d'une spore femelle ; la subdivision peut continuer, la pseudo-spore mâle diminuant de volume jusqu'à devenir très petite, aussi petite que la pseudo-spore femelle que nous décrirons plus loin, mais conservant une forme triangulaire, pointue, qui indique que sa nature est de percer.

On a observé sur feuilles de chêne et d'épicea, à travers l'épiderme, des subdivisions sous-épidermiques du filament mâle ; quelques cas très rares ont été vus à la surface (*e*, pl. II).

En novembre-janvier, le filament présente quelquefois une marche superficielle très courte. Ces exceptions peuvent être sans doute attribuées, soit à la dureté de l'épiderme du

limbe, soit à l'état de la spore brisée et fendue par la trituration, soit à la vigueur, à la brutalité de la germination en cette saison : celle-ci est parfois si impétueuse que la pseudospore ne se donne pas le temps, dirait-on, de percer l'épiderme, afin d'aller plus vite au but. Elle se dirige alors franchement sur la spore femelle voisine et y applique sa pointe (*a* et *c*, pl. I et fig. 8). Lorsque la spore mâle se trouve tout à côté d'une femelle, elle peut suivre dans son développement la marche indiquée dans la figure 4 ; c'est-à-dire que par une série de transformations successives rapides, elle prend la forme d'un petit ver dont la tête demeure parfois coiffée d'un morceau de tégument rugueux enlevé à la spore et dont la partie fine féconde directement ou par filament.



Fig. 4 — Exemple assez rare d'évolution d'un germe mâle.

L'évolution peut être terminée dix jours après l'ensemencement ; pour la bien observer, il faut la suivre jour par jour.

Ce mode de fécondation est fort rare, puisque sur des centaines d'observations, je ne l'ai aperçu que trois fois, mais de façon certaine ; deux fois en juillet et une fois en octobre, sur un chêne mal placé, malingre, privé d'air et de soleil, en un mot dans des circonstances défavorables par la qualité et la position de la feuille. Ayant voulu me rendre compte la dernière fois si le filament intermédiaire, parfaitement visible, qui reliait l'extrémité du ver à la spore

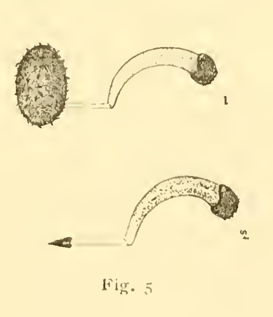


Fig. 5

femellé, partait de celle-ci ou du ver, j'ai passé sur le limbe un pinceau mouillé, la spore a fini par s'en aller et il est resté ce qu'on voit figure 5, n° 2, la petite pointe noire qui était cachée est devenue parfaitement visible.

On peut, à première vue, confondre avec ces sortes de petits vers fécondateurs le croissant des fig. *a* et *d,* pl. I, et penser qu'il y a erreur. En réalité, les deux objets sont différents. Les croissants des figures *a* et *d,* pl. I, ne sont autre chose qu'un reste de tégument de la spore mâle qui s'est vidée dans sa pseudo-spore. Les germinations superficielles mâles de cette forme se voient en hiver.

Que font pendant ce temps les spores femelles? Les unes demeurent inertes, les autres émettent un ou plusieurs filaments terminés par une sporule plus petite que les pseudo-spores mâles d'origine, noires et généralement rondes.

Ce filament chemine sous l'épiderme ou à la surface, en hiver; quelquefois la sporule reste accolée à la spore (*d,* pl. II). D'autres fois elle se dirige comme obéissant à une attraction vers une spore ou pseudo-spore mâle voisine et la touche (*a* et *d,* pl. I, *b,* pl. II).

Après un délai variable, selon les saisons, on voit quelques-unes de ces sporules devenir, sans doute par suite de fécondation, plus grosses, luisantes, dures, absolument sphériques. Ce sont alors vraisemblablement des œufs ou germes complets; ils peuvent laisser apercevoir comme un commencement de germination, sur feuilles. Tombant à terre, ils engendreraient, lorsque les circonstances s'y prêtent, le mycélium truffier.

Quelquefois, on voit apparaître *en été* des sporules, disposées en chapelet, distancées et reliées par un filament invisible qui part de la spore femelle (*a,* pl. II) (1).

Les spores femelles peuvent émettre, comme je l'ai dit, un ou plusieurs filaments à sporules (fig. 6). On pourrait con-

1. Les sporules qui se présentent ainsi en chapelet à la surface du limbe, en été seulement, donc en un moment très défavorable, ne pourraient-elles pas être assimilées à des conidies, d'après l'idée que nous nous en faisons?

clure de là qu'il existe des germes multiples dans chaque spore femelle, celle-ci étant en quelque sorte une sporange plutôt qu'une spore. Cette manière de voir serait confirmée par l'aspect que présentent certaines spores fraîches vues par transparence. On aperçoit à l'intérieur des globules isolées et distinctes, sept, huit ou davantage : ces globules seraient alors autant d'ovules femelles indépendants.

Puisque nous parlons ici de l'aspect des spores, nous devons ajouter que, malgré d'attentives recherches, il n'a pas été possible d'apercevoir entre les spores aucun signe extérieur de sexualité, sauf peut-être l'indice dont on vient de parler. Hors de là, rien ne paraît différencier les spores, soit entre elles dans l'asque, soit au dehors.

En résumé, les modes de fécondation seraient les suivants :

Fécondation de spore femelle par pseudo-spore mâle ;

Fécondation de sporule femelle par spore ou pseudo-spore mâle.

Fig. 6.

Enfin, quelques indices et une ou deux observations directes laisseraient supposer qu'il peut y avoir production d'œufs par rencontre sous-épidermique de filaments.

La fécondation, étant donné que la pseudo-spore mâle est constituée, peut-elle avoir lieu autre part que sur la feuille ? Il semble que non. On a mis en contact prolongé des germes mâles, obtenus sur feuille avec d'autres spores en milieu humide ; aucun résultat n'a été obtenu. Les spores de sexe différent, même germées, restent indéfiniment en contact, autre part que sur feuille, sans qu'il se produise rien qui ressemble à une fécondation.

Naturellement la spore mâle ne produit pas d'œufs, mais elle émet, comme nous l'avons dit, des filaments terminés par des pseudo-spores de plus en plus petits : celles-ci, malgré leur forme triangulaire, peuvent donner l'illusion d'être

des œufs germant surtout lorsqu'ils sont à demi-noyés dans le parenchyme ou en contact avec l'œuf d'une spore femelle voisine.

A cette cause d'erreur dans l'observation s'en ajoute une autre plus sérieuse et spéciale à la Truffe. Le limbe des feuilles est couvert de débris de toutes sortes produits par l'écrasement que l'on a fait subir à la pulpe, afin d'en libérer les spores. Ces fragments ronds, pointus, ovoïdes, difformes et de toutes couleurs, sont confondues avec les pseudo-spores mâles que l'on croit alors voir partout ou que l'on ne voit nulle part.

Cette difficulté d'observation existe à un bien moindre degré lorsqu'on étudie les spores de basidiomycètes.

Délais. — Les délais entre l'ensemencement et l'accouplement sont, en mai et pendant l'hiver, de neuf à dix jours *au moins ;* ils se prolongent parfois beaucoup et l'on peut voir de nouvelles pseudo-spores paraître et des fécondations se produire à plusieurs semaines de distance.

De juin à septembre les délais sont plus longs. Il y a alors *énormément de manquants;* toutefois, sur feuille abritée et *humectée,* on aperçoit quelques germinations. Le développement est long : on dirait que la nature cherche à gagner du temps. Ainsi, contrairement à ce qui se passe pour d'autres champignons, tels que Morilles, Psalliotes, etc., les spores de Truffe *peuvent* commencer leur évolution pendant les mois chauds, quitte à la prolonger sans hâte jusqu'aux gelées.

Après un temps, court en été, la pseudo-spore mâle se flétrit et tombe.

A partir de février, la saison est peu favorable.

En résumé donc, de ce qui précède, on peut conclure que les spores de Truffe se comportent comme des gamètes dissemblables et que, par conséquent, la Truffe est une *plante hétérogame.*

Terminons ce chapitre par quelques observations de technique microscopique.

Les filaments sous-épidermiques sont invisibles ; ils peuvent être très exceptionnellement aperçus à travers l'épiderme sur feuilles jaunes transparentes, ensemencées au printemps (*b*, pl. I et fig. 7).



Fig. 7. — Filament sous-épidermique aperçu au printemps.

On arrive à distinguer de temps en temps, sans le secours des colorants, certains gros filaments mâles extérieurs des germinations d'hiver, malgré leur transparence, lorsqu'ils ne sont pas trop longs. La figure 8 montre une forme de germination assez fréquente.



Fig. 8. — Différentes étapes de quelques germinations extérieures d'hiver.

Les colorants, avec ou sans l'emploi préalable de décolorants (eau de javelle diluée, etc.), n'ont aucune action directe sur ces filaments, mais ils peuvent les faire apparaître par la teinte qu'ils donnent à ce qui les entoure ou en déposant sur leurs parois.

L'hématoxiline, le brun de Bismark, le bleu de quinoléine, l'iode, le nitrate d'argent, la fuchsine ont donné à ce point de vue des résultats équivalents et généralement médiocres. Le violet de méthylène réussit mieux. On teinte légèrement de violet quelques gouttes de glycérine étendue d'eau ; le morceau de feuille, très petit,est laissé plusieurs heures dans cette préparation, puis observé.

CHAPITRE IV

Formation et germination de l'œuf sur feuilles. — Développement ultérieur. — Pouvoir nutritif des feuilles et influence des saisons.

Formation et germination de l'œuf sur feuilles. — Les ensemencements faits au commencement de mai et en décembre-janvier, c'est-à-dire à l'époque la plus favorable, peuvent donner des sporules au bout de quinze à vingt jours au plus tôt. Ces œufs ne paraissent bien formés qu'après un délai de huit à douze semaines depuis l'ensemencement.

Les ensemencements datant de juin–août, moment peu favorable, ne montrent des sporules, *lorsqu'ils réussissent,* que huit à douze semaines après, au plus tôt. Celles-ci ne semblent arriver à maturité qu'en hiver.

De toutes façons la sporule semble avoir besoin de huit à douze semaines pour mûrir : donc en résumé, les ensemencements d'été ou d'automne produisent en janvier, février, mars, des œufs formés et mûrs ; les ensemencements de mai donnent fin juin des œufs formés et quelquefois germant en apparence.

La maturité des œufs paraît se manifester par un certain grossissement aussi bien que par émission de filaments ; car ceux-ci peuvent manquer alors que l'œuf est mûr et facilement détachable, si le limbe reste absolument privé d'eau.

Le manque d'air, de jour, l'excès d'eau ont paru nuire à la germination ; le froid, même intense, ne semble pas avoir d'effet. J'ai ensemencé des feuilles sur arbre, en décembre, alors que le thermomètre marquait, la nuit, douze et quinze degrés au-dessous de zéro, température extrême pour les climats à vigne, la germination ne s'est pas arrêtée ; c'est tout au plus s'il y a eu du retard. Les premières gelées pa-

raissent avoir un effet favorable, soit qu'elles agissent sur la spore, soit qu'elles modifient avantageusement le tissu de la feuille (1).

Une feuille ensemencée le 20 août montre en décembre des œufs bien formés ; une feuille ensemencée en mai montre fin de juin des œufs mûrs ; une feuille ensemencée en décembre montre en janvier des œufs prêts à germer ou germant, etc., etc. On pourrait citer une infinité de cas semblables.

Reste à savoir si ces germinations très ténues sont bien un début du mycélium ou l'extension d'un système radiculaire, d'un thalle destiné à nourrir et à grossir l'œuf. Considérant la déformation de l'œuf, nous serions portés à croire qu'il s'agit plutôt d'un mycélium naissant.

Développement ultérieur de l'œuf. — Que deviennent les œufs mûrs, prêts à germer ou germant ?

Nous admettons que, tombant en terre avec ou sans la feuille, ils forment, lorsque les circonstances s'y prêtent, le début du mycélium truffier.

Il aurait été intéressant de suivre sur la feuille même le développement de ce mycélium, de le voir s'étendre, gagner en force et en épaisseur ; sur ce point, des expériences réitérées n'ont donné qu'un résultat négatif.

Des feuilles portant des œufs mûrs ont été mises en tube fermé ou en boîte, en atmosphère humide. Elles peuvent

1. Il arrive quelquefois pour des raisons inconnues, que l'ensemencement sur feuilles échoue complètement. Des feuilles préparées en décembre 1900, avec les précautions voulues, ne laissaient rien paraître après quinze jours. A peine quelques filaments avortés, ni pseudo-spores, ni sporules, ni accouplements ! La truffe employée avait donné, dans de précédents essais, de bons résultats. A quoi attribuer cet insuccès et d'autres du même genre ? On serait tenté de penser qu'ils tiennent à l'absence de froid et à la température chaude et humide de novembre et décembre 1900. Pas une fois il n'a gelé pendant ces deux mois. Le froid serait donc nécessaire ? Ajoutons que pendant ces périodes de tiède humidité, le limbe des feuilles se couvre de végétations parasites, visibles au microscope seulement, et que la gelée détruit. Ces mycélium parasites gêneraient-ils le développement des spores ? C'est encore possible.

ainsi se conserver des années sans pourrir, intactes, et même vertes. Observées après un an, dix-huit mois, deux ans, elles ne montrent que l'œuf d'origine, un peu grossi, et c'est tout. Il faut ajouter que, dans ces conditions d'air raréfié, les mycélium de champignons, quels qu'ils soient, ne tardent pas à s'atrophier ou à périr. On se heurte à une insurmontable difficulté. Si la feuille reste exposée à l'air, elle pourrit, et l'observation devient impossible. Si on la protège de l'air, elle ne se trouve plus dans les conditions naturelles de son existence et l'observation est trompeuse.

A la vérité, dans la plupart des cas, le limbe de la feuille est couvert d'un inextricable réseau de filaments dont l'existence ne peut être soupçonnée à l'œil nu. Le microscope, même avec de forts grossissements, ne révèle rien ; à l'aide de colorants tels que le violet de méthylène, on les fait cependant apparaître.

La feuille non pourrie et suffisamment transparente est trempée deux ou trois minutes dans un bain préparé comme suit, au moment de s'en servir :

Alcool absolu saturé de violet de méthylène, deux ou trois gouttes ;

Eau, quinze à vingt cent. cubes.

On passe quelques secondes à l'eau et l'on observe.

Ce réseau de filaments que les colorants font apparaître, est-il pour tout ou partie issu du germe truffier ? Comment le savoir ? Sans doute on aperçoit, en certains cas, croyons-nous, l'œuf germant, et pour cela il n'est besoin d'aucune préparation. Le simple examen de la feuille par transparence suffit. On voit les filaments partir ; mais quant à les suivre dans l'inextricable réseau, cela nous paraît impossible.

Les filaments sortent peut-être en partie du germe truffier, peut-être n'en viennent-ils pas ; beaucoup sont des mucédinées simples, des parasites quelconques.

Des œufs qu'on a essayé de déposer par frottement sur racines n'ont pas paru se développer mieux que sur feuilles. On observe bien, courant sur radicelles ainsi préparées, des

filaments ténus, brun clair, qui pourraient venir de l'œuf, mais rien n'est certain.

Quant au mycélium *brun-rouge, armé de griffes et de suçoirs,* décrit par le docteur Ferry de la Bellone comme étant celui de la Truffe, je crois l'avoir observé sur des radicelles qui n'avaient jamais produit de truffe ; il se rencontre même occasionnellement sur les feuilles et paraît tenir à une mucédinée du genre *altenaria.*

En résumé, des observations faites, on serait tenté de conclure :

Que la feuille peut servir de soutien et d'aliment momentané au mycélium truffier ;

Que l'œuf n'augmente pas, ne devient pas truffe, mais qu'il est simplement le point de départ de la truffière ;

Que le mycélium est très ténu et de développement assez lent sur feuille ;

Enfin, il a semblé que la spore de Truffe était exigeante quant à la propreté du substratum. Elle s'accommode mal des concurrents parasites ou saprophites, et leur cède la place. De là peut-être sa germination plus énergique et plus forte quand la feuille sèche reste à l'arbre. Celle-ci, en effet, dans cet état, n'est humide qu'accidentellement et garde plus longtemps son limbe intact.

Pouvoir nutritif des feuilles et influence des saisons. — Il est à remarquer que si de juin à novembre *on cueille* des feuilles sur lesquelles les spores sont en train de germer et si on les place en atmosphère humide, dans les conditions les plus favorables, tout s'arrête ; autant du moins que l'on peut en juger, jusqu'au moment où la pourriture de la feuille rend l'observation impossible.

Sur feuilles sèches de l'année précédente et ensemencées *en cette saison,* l'évolution paraît également s'arrêter après quelques jours.

Le contraire a lieu sur feuilles sèches ensemencées de décembre à janvier, la germination se continue.

On pourrait conclure de là que l'état de la feuille, pourvu qu'elle ne soit ni anémiée ni malade, n'a pas grande importance ; la saison est tout ; bonne en mai et de décembre à janvier, elle est défavorable le reste du temps.

Si le pouvoir nutritif des feuilles constituées paraît être sensiblement toujours le même, leur état physique influence la germination. Celle-ci est lente, pénible, et ne s'achève pas sur feuilles affaiblies, diaphanes, comme on en voit sur les petits chênes qui végètent au pied des arbres verts. De même, lorsque la feuille a été cueillie trop jeune, l'évolution se fait difficilement.

Il me reste à dire que le développement des spores fraîches n'est pas différent de celui des spores de l'année précédente. Il y a moins de manquants, et c'est tout. Les différences constatées dans les délais et le mode d'évolution ne viennent donc pas du degré d'ancienneté des pores, au moins dans une mesure raisonnable.

CHAPITRE V

Aptitude des spores à germer d'après leur état. — Utilité de l'arome. — Aptitude par rapport à la nature et à l'exposition de la feuille. — Époque et procédés d'ensemencement. — Délais. — Utilité des arbres. — Pourquoi les truffières sont-elles si rares dans les bois de chênes truffiers?

L'aptitude des spores à germer dépend de leur état de



Figure 9.

Pulpe de Truffe fraîche ou vieille d'un an n'ayant pas fermenté. Pulpe de Truffe ayant subi un commencement de fermentation.

conservation et, en second lieu, de la nature et de l'exposition de la feuille.

J'examinerai d'abord le premier point, ce qui m'amènera à parler de l'arome.

Aptitude des spores à germer d'après leur état. — Si une truffe mûre séjourne en terre ou demeure dans une chambre, elle subit l'une des deux transformations suivantes ; ou bien elle se dessèche et durcit ; ou bien elle entre en pourriture, pour mieux dire, en une sorte de fermentation, puisque souvent, en plein air, cette décomposition est produite tant

par des bacilles que par un ferment genre *saccharomices,* et accompagnée de dégagement ammoniacal.

La Truffe, simplement desséchée, devient aussi dure que le bois; mais cet état de dessiccation, complet en apparence, n'est qu'un trompe-l'œil : en réalité, les asques et les spores sont en grande partie intacts. Mis en eau ils reprennent vite leur forme et leur bonne mine (fig. 9).

Extraites de leurs asques et ensemencées un an après la maturité, les spores germent très bien quoiqu'en moins grand

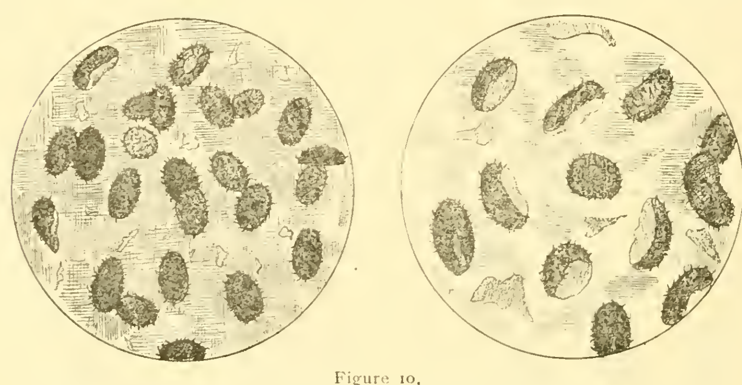


Figure 10.
Pulpe ayant fermenté à l'origine (spores privées de leur asque et à demi desséchées.) Pulpe ayant fermenté à l'origine (spores complètement desséchées.)

nombre que si elles étaient fraîches; elles germent même après deux ans, plus tard encore, mais les manquants sont plus nombreux. D'où il suit que si, en cet état de conservation sèche, la Truffe vient à être humectée, à se désagréger en terre, le rôle des insectes continue de façon utile, car les spores sont aptes à reproduire.

Lorsque, au contraire, la fermentation ou la pourriture ont attaqué la Truffe avant son dessèchement, les asques sont détruits en grand nombre au bout de quinze à vingt jours; tous sans exception si la fermentation se prolonge.

Les spores mises en liberté par la décomposition de l'asque ne sont nullement impropres à germer, à moins que la pourriture n'ait continué pendant des mois sans interruption; elles peuvent être ensemencées; c'est peut-être même par la

pourriture de l'asque que la nature les dégage pour les ensemencements de printemps. Si la Truffe n'était alors ramollie et désagrégée par l'eau, les insectes ne pourraient y pénétrer. Seulement ces spores ne restent fécondes que pendant un temps, et à la condition de demeurer à l'ombre ou protégées contre une trop forte chaleur. Même avec ces précautions, il en restera peu d'aptes à germer après une année, et à la longue plus du tout.

Exposées au soleil ou conservées en terre surchauffée, elles seront bientôt desséchées à fond et deviendront stériles (fig. 10).

La Truffe qui a fermenté est donc relativement impropre à conserver l'espèce puisqu'elle n'est apte à reproduire, en principe, que l'hiver de sa maturité et le printemps suivant : pour l'année d'après, elle peut n'être d'aucune utilité.

Il convient d'ajouter que la pulpe desséchée après fermentation a perdu tout arome et n'exhale aucune odeur, même humectée. On peut la distinguer de la pulpe non fermentée à ce caractère, ainsi qu'à sa couleur beaucoup plus foncée, presque noire.

Ainsi, dans un sol où toute la production truffière aurait été atteinte par la pourriture, à la suite de pluies incessantes par exemple, ou faute de drainage, les chances de germination sur feuilles seraient diminuées, et les réserves pour l'avenir manqueraient absolument. Au contraire, la Truffe desséchée avant fermentation assure la conservation de l'espèce pendant un an, deux ans et davantage.

Utilité de l'arome. — C'est ici qu'apparaît l'utilité probable de l'arome, car de tous les végétaux il n'en est peut-être pas de plus fermentescible que la Truffe, avec sa pulpe compacte et profonde contenant 75 °/₀ d'eau et près de 22 °/₀ de matières organiques azotées. (Le reste, soit 2 °/₀, est formé de potasse, acide phosphorique, chaux, fer, silice, etc., etc.)

Aussi fermenterait-elle toujours avant de sécher, si l'arome n'agissait comme un antiseptique, un retardateur.

Le rôle de l'arome a été vérifié par de nombreuses expériences ; j'en citerai quelques-unes.

Des morceaux de Truffe fraîche ont été enfermées dans un tube qu'ils remplissaient aux trois quarts ; on a hermétiquement bouché. Trois mois après, le tube fut ouvert ; la Truffe répandait encore un fort parfum, une sorte d'arome modifié, durci, mais point du tout une odeur de pourriture. En fait, il n'y avait ni décomposition, ni dégagement gazeux ; les asques étaient presque tous intacts.

Dans ces mêmes conditions, si l'on avait laissé l'odeur s'évaporer, tous les asques auraient été détruits.

On a placé dans un autre tube un morceau de Truffe fraîche avec un peu d'eau mêlée de ferments. Plusieurs mois après, il n'y avait ni mauvaise odeur, ni dégagement gazeux ; les asques étaient conservés.

De la pulpe préalablement éventée, enfermée dans les mêmes conditions, était complètement pourrie ; les asques n'existaient plus.

Enfin, dans un tube stérilisé on a enfermé avec des précautions antiseptiques une tranche intérieure de Truffe avec de l'eau stérilisée. Après une année, l'odeur de la Truffe persiste, mais forte et rude. Il y a une demi-pourriture, beaucoup de microbes vivants, mais les asques sont en grande partie intacts. Ils s'étaient défendus, ce qui donne à penser que l'odeur est dans l'asque même et non dans la pulpe extérieure.

Les mêmes expériences tentées avec la Truffe du Piémont, dont l'odeur est plus forte et plus pénétrante, ont donné des résultats identiques.

De ces expériences et de beaucoup d'autres tentées dans le même sens, il résulterait donc que l'arome a pour but la conservation de l'espèce par la protection des asques (1).

1. Il suit de là que lorsque la terre demeure trop longtemps humide en hiver, les Truffes de l'année, à la longue, pourrissent toutes. Peut-être faut-il attribuer à cette cause, le fait observé que l'humidité constante du sol supprime les truffières ou les empêche de se former. Il est à remarquer que l'arome des Truffes est d'une intensité proportionnelle à l'humidité du sol où

Indirectement il révèle la Truffe aux animaux tubérivores, mais il ne serait nul besoin pour cela qu'il fût aussi intense, puisque l'odeur beaucoup plus faible que dégage la Truffe desséchée, humectée ou non en terre, suffit à les attirer. Ceci n'a rien d'étonnant si l'on considère le développement extraordinaire des facultés olfactives reconnu chez les insectes carnivores ou mycophages.

Ainsi l'odeur du phalle attire les mouches, à travers bois, à de très grandes distances ; et les Bousiers ! une bouse fraîche vient-elle à paraître, la bonne nouvelle se répand au loin avec une rapidité étonnante et on les voit accourir en un instant de tous les points de l'horizon !

De ces précautions minutieuses que la nature a prises pour assurer la conservation des spores truffières, il ne s'en suit pas que celles-ci perdent facilement la faculté de germer. Le contraire est plutôt vrai.

J'en ai vu germer qui étaient dans un état de dessiccation voisin de la fig. 10. Brisées, coupées en deux, elles germent encore, *avant* leurs voisines intactes. J'en ai mis, après les avoir sorties de leurs asques, dans de l'eau phéniquée à plus de 4 pour 100 où elles sont restées huit mois ; je les ai ensemencées ensuite, plusieurs ont germé, faiblement, mais elles ont germé.

En résumé, les Truffes fraîches mais *bien mûres* donnent les meilleurs résultats ; puis viennent les Truffes vieilles d'un an, mais desséchées avant fermentation. Les Truffes ayant fermenté et utilisées longtemps après donnent des résultats incertains.

Aptitude des spores à germer d'après la nature et l'exposition de la feuille. — J'ai ensemencé des spores

elles se forment. Ainsi la Truffe d'Italie, qui vient au pied des peupliers et des saules, a une odeur d'ail d'une force et d'une persistance incroyables. Pour en obtenir la pourriture, il faut la maintenir très longtemps, à l'air, en milieu humide. A la fin, l'arome ayant disparu, la décomposition arrive complète et repoussante. D'autre part, les Truffes d'Afrique qui naissent en lieux secs, ont l'odeur douce et agréable.

sur chênes pubescents, chênes-liège, sapins argentés, yeuses, chênes divers, noisetiers, épiceas, pins à cinq feuilles, genevriers, tous ces essais ont plus ou moins réussi. Il est probable que d'autres arbres donneraient également de bons résultats.

Les feuilles de noisetier apparaissent et se forment au printemps bien avant celles de chêne, il semble donc que, toutes choses égales d'ailleurs, elles devraient avoir un peu plus de chance en leur faveur pour les générations de mai. D'autre part, pour la production d'hiver, elles n'existent pas; elles ne sont donc assurément pas supérieures aux feuilles de chêne.

Les conifères (le sapin argenté) sur lesquels l'observation est relativement facile, donnent en hiver de mauvais résultats. On dirait que, dans cette famille, le sclérenchyme sous-épidermique de la feuille durcit outre-mesure lorsque la sève se retire. Il semble opposer alors un obstacle insurmontable au cheminement sous-épidermique de la pseudo-spore qui profite alors, quelquefois, pour entrer ou sortir, des spores stomatiques.

En fin de compte, pour observer, rien ne vaut la feuille de *jeune* chêne pubescent, moyenne, transparente, plate, vert-clair, par conséquent ni gelée, ni desséchée. On en trouve des quantités dans ces conditions jusqu'à la fin de février et plus tard sur les arbres où elles sont tant soit peu abritées, lorsque le froid n'a pas été excessif.

Au soleil, en été, tous les ensemencements sont restés stériles. A partir de novembre, le soleil ne nuit pas. Ce qui est indispensable en tout temps, c'est une feuille saine et vigoureuse. Sur feuilles anémiées, flasques, diaphanes faute de jour ou d'air, les sporules se forment difficilement ou point du tout.

Il va de soi que la pluie, les grands vents sont contraires, mais ils ont moins d'effet qu'on ne pense : les spores adhèrent au limbe avec une persistance étonnante.

« Les orages de vent, écrit le Dr Ferry de la Bellone, ont

une action toujours mauvaise; on craint, non sans raison, ceux qui soufflent aux mois de mai et de juin (*La Truffe,* p. 177). Ce fait serait-il en corrélation avec ce que nous avons dit des ensemencements de mai qui produisent l'œuf en juin (?).

Faut-il de préférence ensemencer sur feuilles *situées au nord,* nous n'en savons rien. A première vue il semble que oui. De ce côté elles sont plus abritées du vent et du soleil; puis il est d'expérience que les truffières ont tendance à se former « dans l'ombre de midi ».

Les feuilles en plein air, ensemencées pour l'observation, apportent souvent des déceptions à celui qui les cueille après plusieurs semaines, croyant y trouver du premier coup des exemples de germination complète. C'est qu'en effet au dehors les spores ou pseudo-spores qui ont fructifié, les œufs même finissent par tomber. Beaucoup de spores, sans tomber, blanchissent, deviennent transparentes, se noient dans l'épiderme et sont alors difficiles à apercevoir. Impossible de tracer avec certitude l'origine d'une pseudo-spore ou d'une sporule et de tirer conclusion des faits observés.

L'humidité sur la feuille, pluie ou rosée, est-elle indispensable? Aussi longtemps que la feuille garde un vestige de sève, la germination se poursuit sans le secours de l'eau; lorsque la feuille est desséchée comme le plus souvent en novembre-janvier, l'humidité de la saison suffit en principe pour l'arbre en plein air. Cependant, sur feuilles en plein air, pendant une période de sécheresse exceptionnelle, la germination s'est arrêtée. Même observation sur des feuilles mortes, l'arbre qui les porte étant en serre : dans ce cas des pulvérisations d'eau étaient nécessaires.

Époque et procédés d'ensemencement. — De ce qui précède il résulterait que le meilleur moment pour ensemencer est la première quinzaine de mai et surtout l'intervalle de fin novembre à fin janvier.

Les seules feuilles utiles seront donc en hiver, c'est-à-dire pendant la bonne saison, celles qui restent longtemps à l'arbre ; or le propre des chênes dits truffiers, le pubescent et l'yeuse, est précisément de conserver les feuilles jusqu'au printemps, sinon l'année entière : c'est peut-être pour cela qu'ils ont mérité le qualificatif de *truffiers*.

Pour l'observation, novembre, décembre et janvier sont les meilleurs mois.

Les procédés d'ensemencement suivants, adoptés après quelques tâtonnements, ont donné des résultats satisfaisants.

Je prends un petit morceau gros comme un pois de Truffe fraîche ou desséchée avant fermentation et je le fais tremper quelques heures dans de l'eau.

Je l'écrase ensuite avec un peu d'eau entre deux verres dépolis, sans trop appuyer, de manière à obtenir une pâte *homogène sans gruau, adhérente ;* je frotte quelques instants encore. L'usage d'une lame ou d'un métal n'est pas à recommander.

La pâte obtenue est mêlée à de l'eau de façon à former un liquide brunâtre, nullement consistant, *presque aussi fluide que l'eau même ;* dix ou douze centimètres cubes d'eau suffisent pour gros comme un pois de pulpe. Ce liquide contient un très grand nombre de spores libres.

Avec un pinceau, un bout de papier, j'en étale une très petite quantité, comme une tête d'épingle sur la nervure médiane de la feuille. On peut faire l'opération très vite et sans aucun soin, un simple coup de pinceau et c'est assez.

L'expérience a prouvé qu'il n'était pas aisé d'écraser la pulpe dans les justes limites. Tantôt on écrase trop, et les spores sont endommagées ; tantôt, souvent, on n'écrase pas assez ; les spores restent dans leur asque. Ces asques, dans les truffes fraîches, sont *difficiles* à rompre.

Le procédé suivant peut alors être employé.

Douze à quinze jours avant l'ensemencement, on met à détremper dans l'eau, pendant vingt-quatre heures, quelques morceaux de truffe gros comme des pois. Ils sont, après ce

délai, retirés, enveloppés de papier mouillé et placés dans un verre avec un peu d'eau au fond; le verre est couvert et l'on attend.

Le papier ne pouvant sécher, la pourriture commence dès que l'arome s'en est allé. Au moment d'ensemencer on trouve la pulpe tendre, noire, sans odeur ; les asques sont détruits ou endommagés. Par un frottement léger et peu prolongé, avec de l'eau, on obtient une pâte homogène dans laquelle les spores sont en liberté. Cette pâte est mêlée à de l'eau et employée comme il a été dit précédemment.

Les alentours de la nervure médiane forment le meilleur champ de culture. Sur feuilles anémiées on remarque que le limbe loin du centre ne fournit pas d'aliment suffisant aux spores; j'ai cru observer également que sur ces mêmes feuilles, la germination est plus active du côté du pétiole que près du sommet, ce qui serait d'accord avec le basipetisme des essences employées.

Il est essentiel d'employer des truffes *bien mûres* et non ayant pris odeur avant la maturité comme il arrive après de grands froids précoces (1). Une truffe mûre de l'année précédente vaut *mieux* qu'une truffe fraîche incomplètement mûrie.

On n'a pas observé qu'il y eût le moindre avantage à mélanger les pulpes de plusieurs truffes de la même année ou d'années différentes.

On a essayé de déposer sur le limbe, en même temps que les spores, des matières nutritives diverses, liqueur de Raulin, sucre, jus de viande, sérum, produits organiques, etc., le résultat a été nul ou plutôt mauvais, ces détritus favorisant le développement des parasites qui arrêtent la germination de la Truffe et empêchent l'observation.

En suivant les indications que nous venons de donner, on obtiendra toujours beaucoup de germinations.

1. Les froids vifs et précoces, quand ils ne gèlent pas la Truffe, lui donnent l'odeur avant la maturité. Celles-ci dont l'arome n'est alors ni profond, ni durable, se vendent moins cher. Cet accident cause aux rabaissiers des pertes sérieuses.

Une question se pose. Vaut-il mieux ensemencer à l'arbre ou sur feuilles détachées?

Dans une précédente étude j'avais cru pouvoir mettre sur le même pied, pour l'hiver, l'ensemencement sur feuilles à l'arbre et celui sur feuilles sèches conservées en boîtes Petri, ce dernier mode ayant l'avantage de protéger la feuille contre tout danger extérieur (1). Depuis il a semblé que la feuille en boîte, à moins de précautions minutieuses et difficiles, était trop exposée à se couvrir de moisissures qui arrêtaient ou gênaient la germination. De plus l'observation peut devenir rapidement impossible.

Il serait donc préférable, tant pour l'observation que sans doute pour la germination même, d'ensemencer à l'arbre en toute saison. Après deux mois je donne un coup de bêche en terre, sous l'extrémité des branches, dans le rayon des radicelles, et j'enfouis une ou deux feuilles ainsi ensemencées marquées d'avance par une ficelle ou de toute autre manière.

Quelques essais pratiques ont été ainsi tentés, malheureusement dans un pays où les circonstances ne sont pas favorables puisqu'il faut amender la terre pour l'amener aux 2 °/₀ de calcaire qui seraient indispensables.

Les conditions essentielles pour l'existence d'une truffière sont en effet, comme on sait, sol calcaire à 2 °/₀ au moins, bien drainé et non exclusivement siliceux; climat de la vigne. Et encore pour le climat existe-t-il une grande latitude puisque la Truffe du Périgord a été recueillie en Seine-et-Oise et jusqu'en Saône-et-Loire, et qu'on en récolte des Truffes moins bonnes, il est vrai, mais encore très mangeables en Asie, en Afrique, partout enfin.

De jeunes chênes pubescents de quatre ans traités en 1899

1. Les boîtes Petri ont environ douze centimètres de diamètre. On y dispose quelques morceaux de verre de façon que les feuilles préalablement mouillées puissent être placées limbe en haut, en plan incliné, et portant sur une ou deux arêtes de verre. L'eau ne doit être en contact ni avec le dessus ni avec le dessous des feuilles, sans quoi la pourriture arrive promptement. La boîte fermée est conservée à l'ombre et à la fraîcheur; on surveille de temps en temps. Après quelques jours la germination commence.

n'ont encore rien donné en 1902. J'en suis à me demander si la semence si délicate de ce champignon n'a pas besoin de rencontrer au début, pour se développer en terre, une nourriture plus spéciale, plus choisie que le sol ordinaire ; peut-être un aliment *approprié,* de nature végétale, comme des racines avec lesquelles elle serait en contact immédiat, ou même de nature animale. Cependant l'hypothèse d'un second transport dans le corps ou sur les pattes de la mouche paraît à première vue improbable.

De toutes façons, lorsqu'une expérience est tentée, quand peut-on être fixé sur les résultats ?

Ceci m'amène à répondre, en terminant, à deux questions qui ont été souvent posées.

Délais. — 1° En supposant que tout réussisse ; que l'œuf déposé ou tombant en terre, avec ou sans la feuille, germe dans des conditions favorables, combien de temps faut-il pour que la truffière apparaisse, pour qu'elle produise des fruits ?

2° En supposant également que l'œuf soit déposé en terre sur feuille, prêt à germer, et dans de bonnes conditions, l'arbre, ses racines, sont-ils *nécessaires* à la formation et à la production des truffières, ou bien peut-on s'en passer.

Sur le premier point, la réponse est douteuse. Les uns, parmi lesquels d'éminents botanistes, disent qu'il faut cinq à dix ans avant l'apparition des premières Truffes, basant cette opinion sur le temps moyen reconnu nécessaire à une plantation de jeunes chênes pour devenir truffiers. Les autres croient ces délais exagérés. D'après les expériences très sérieuses de M. C. Kiefer (1), inspecteur des forêts à Uzès, deux années, une année même suffirait pour que la truffière

1. M. C. Kiefer, après avoir creusé, en pays truffier, des fosses d'environ 30 cm. de profondeur sur les bords des bois, en sol fraîchement défriché, y transporte de la terre prise aux truffières les plus voisines (1882-1889) : dès la première ou seconde année il a récolté des truffes. Les germes auraient donc été apportés avec la terre (?) ou seraient venus des feuilles et auraient germé plus facilement en terre arable et fraîchement remuée. Ces expériences reprises par d'autres, en pays truffiers et non truffiers, n'ont pas réussi.

se constituât et produisît ses premiers fruits ; il y a peut-être, là aussi, exagération.

Quant à la Truffe même, il lui faut six mois pour passer de l'état d'embryon, de la grosseur d'un grain de mil, à son développement complet. C'est un fait connu.

Nécessité des arbres. — Sur le second point, *l'arbre est-il indispensable en tout état de cause ?* On n'est pas davantage fixé.

Pour que l'arbre soit indispensable, il faut admettre en effet que le mycélium truffier est parasite nécessaire des racines ou que, tout au moins, sans être positivement parasite nécessaire, il les touche, les enveloppe et se nourrit de leurs *excrétions*.

Or, nous avons vu (page 7) que la question du parasitisme est débattue. Les uns, MM. Condamy, Grimblot, de Ferry en sont partisans; les autres, MM. H. Bonnet, Grognot, Tulasne, Boudier la nient énergiquement ; ce dernier avis prévaut en général.

Quant à la *nécessité* des excrétions radiculaires pour nourrir le mycélium, nécessité que semblent admettre Tulasne, le professeur Clos, et d'autres éminents botanistes, nous ferons observer que la réalité de cette excrétion est aujourd'hui mise en doute. M. Van Tieghem (*Traité de Botanique,* 1892) est amené « à regarder comme probable « qu'elle ne s'opère pas du tout ». En tous cas elle serait extrêmement faible, puisque « les travaux les plus précis « accomplis dans cette voie n'ont donné qu'un résultat « négatif ».

On cite des faits certains et en apparence concluants pour démontrer que les racines ne sont pas indispensables; par exemple des truffes ramassées en plein champ, loin de tout arbre; des truffettes transplantées et achevant ensuite de se former ; une truffe « venue dans un trou de pierre sans « absolument aucune fissure en communication avec les « racines ou radicelles des alentours » (C. Kiefer, 1889), etc., etc.

D'autre part, les trufficulteurs nous disent et l'expérience prouve que lorsqu'on coupe un arbre ou seulement parfois une branche de l'arbre, la truffière meurt. Pourquoi ? Est-ce à cause de la suppression de l'ombre ou parce que, étant donnée la préexistence de la truffière, il est nécessaire à sa production que chaque année des germes nouveaux tombent en terre ; germes dont les filaments s'anastomosant en quelque sorte avec les filaments anciens de la truffière, profiteraient du mycélium formé et des réserves acquises, pour nourrir leur fruit? Il semble que la raison est plus simple.

Sans préjuger en rien la question du *parasitisme nécessaire,* on peut admettre comme vraisemblance, d'après les observations faites, que le mycélium truffier, pareil en cela à celui d'autres champignons, enlace les racines qu'il rencontre, s'y attache, et puise en elles les aliments et surtout l'humidité nécessaire dans les périodes de sécheresse. Cette source de subsistances vient-elle brusquement à se tarir par le dépérissement des racines, la truffière constituée le plus souvent en terrain pauvre, sevrée brutalement de ses moyens d'existence, dépérit et meurt.

Il ne suit pas de là que la racine de *l'arbre* soit *indispensable.* D'autres aliments peuvent la remplacer. Je serais d'avis que cette indispensabilité n'existe pas ; mais on voit que la question est loin d'être résolue.

Pourquoi les truffières sont-elles si rares dans les bois de chênes truffiers. — De ce qui précède, il paraît résulter que le mode actuel d'exploitation des truffières amènerait logiquement leur disparition, si le nombre d'arbres truffiers existant n'était pas tellement immense, ou du moins qu'il les empêche de se multiplier proportionnellement à l'énorme étendue des plantations truffières dans le centre et le midi de la France.

Le trufficulteur s'en remet à la nature pour la dissémination des germes, et d'autre part, il s'efforce de rendre cette

dissémination impossible en enlevant des truffières tout ce qu'elles produisent, en les épuisant à fond et supprimant les réserves de semences dont la nature a besoin.

Les partisans de la truffe maladie ou de la mouche truffigène approuveront cette exploitation intensive, mais les botanistes penseront autrement : de fait, cette dévastation produit de fâcheux résultats.

Si l'on tient compte des surfaces considérables, des centaines de mille hectares, consacrées dans notre pays à la trufficulture, on peut s'étonner du petit nombre de truffes récoltées et de leur prix conséquemment élevé. A peine un chêne est-il truffier sur cent, deux cents ou davantage.

La conclusion serait, il semble, que même en n'usant pas de procédés artificiels d'ensemencement, même en continuant de laisser agir la nature, il conviendrait d'oublier chaque année, au pied des chênes, quelques bonnes truffes placées en terre, dans un pot qui les protègerait des rats, des mulots et autres *destructeurs nuisibles*.

On faciliterait sans doute ainsi le travail des insectes utiles, mouches ou coléoptères, et par suite la dissémination de l'espèce.

CHAPITRE VI

LA TRUFFE DU PIÉMONT

Les observations faites sur les spores de ce champignon portent à croire que leur germination suit des règles identiques à celles qui ont été exposées relativement à la *Tuber melanosporum*.

Les œufs sont quelquefois, quoique rarement, très gros, et paraissent germer plus tôt ; les pseudo-spores sont aussi, parfois, exceptionnellement grosses, presque aussi volumineuses que la spore même (*a*, pl. III).

Tout ce qui a été dit, en général, de la Truffe du Périgord, dans les différentes circonstances naturelles ou artificielles qui peuvent se présenter, s'applique également ici.

L'observation est plus difficile, les spores étant transparentes et les filaments mâles, quand extérieurs, très courts et très peu visibles. Les colorants n'ont pas d'action sur ces filaments, mais ils en facilitent l'observation en agissant sur ce qui les entoure.

CHAPITRE VII

LE COPRIN

Spores de Coprin. — Feuilles sur lesquelles elles ont germé. — Mode de germination. — Ensemencement. — Observations sur le rôle des feuilles et le développement asexué de la spore.

La spore du Coprin est généralement lisse; noire, assez grosse, ovale, quelquefois discoïde, le tiers ou le quart de celle de la Truffe. La plupart des Coprins ont donc une spore semblable; la grosseur seule varie. Le même Coprin, à sa seconde génération issue de spore unique, devient, comme on sait, une plante à chapeau généralement diminué et à spores plus petites.

Feuilles sur lesquelles elles ont germé. — Les spores de Coprin stercoraire ont germé sur chêne pubescent, et chêne ordinaire; sur sapin argenté difficilement; quelquefois et exceptionnellement sur d'autres essences, telles que conifères variés, tilleul, etc. On n'a rien observé sur les graminées.

Sur feuilles coupées trop tôt après l'ensemencement et mises en boîte, sur arbre en serre ou appartement non arrosé, sur feuilles trop jeunes, insuffisamment formées, en un mot dans la plupart des circonstances défavorables énumérées à propos de la Truffe, le Coprin n'a pas germé ou la germination a avorté.

L'apport de substances étrangères sur la feuille en même temps que la spore, a été, comme pour la Truffe, plutôt nuisible qu'utile.

En indiquant les feuilles sur lesquelles des essais ont été

faits et en spécifiant celles qui ont donné, pour l'observation, les meilleurs résultats, on ne prétend pas connaître assurément le seul ou le meilleur substratum pour la germination sexuée du Coprin. D'autres substratum sont probablement aussi bons ; il en est même vraisemblablement de meilleurs que la feuille de chêne, si l'on en juge par le nombre des manquants, de même que cette feuille paraît supérieure à celle des conifères.

Les grands avantages de la feuille de chêne, surtout du pubescent jeune, sont, comme je l'ai dit à propos de la Truffe, la planerie et la propreté relative du limbe, l'absence de poil à la partie supérieure, la durée à l'état vert, la solidité, la transparence, et la résistance relative à la pourriture, provenant sans doute du tanin, toutes qualités précieuses pour l'observation.

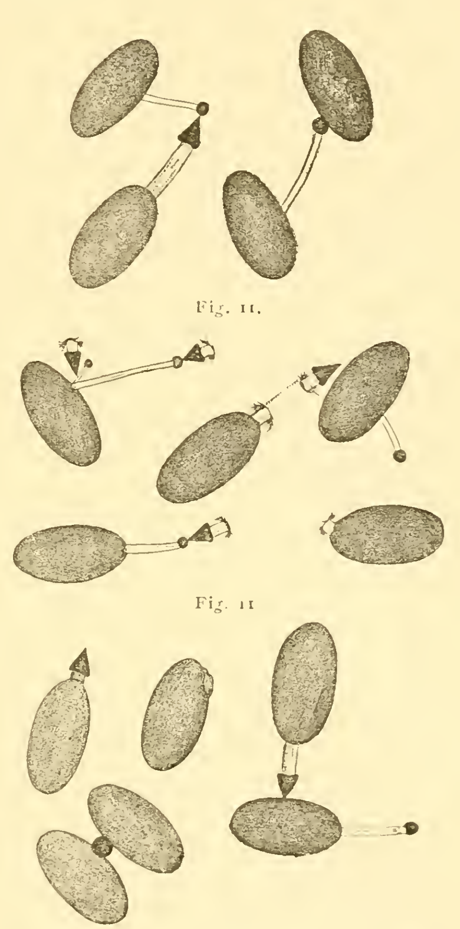


Fig. 11. — Germination sur feuilles de spores de Coprin (nov.-déc.).

A ces points de vue, la feuille de sapin argenté serait aussi excellente ; mais elle donne par trop de manquants surtout à l'arrière-saison et ne convient plus après les froids.

Mode de germination. — Il est le même que pour la Truffe (figure 11). Toutefois nous n'avons pas aperçu de jets secondaires émanant de pseudo-spores mâles. La marche extérieure du filament mâle est rare même en hiver : elle peut être partiellement superficielle (fig. 12).

On a ensemencé dans de la bouse de vache, au printemps et en été, des spores isolées de Coprins stercoraires. Quelques jours après il se développait naturellement des Coprins de deuxième génération, continuant la plante primitive; une troisième génération a été produite.

Les spores de ces deuxième et troisième génération, placées sur feuilles en automne, ont laissé voir comme les autres des germinations, des gamètes mâles et femelles, et des accouplements.

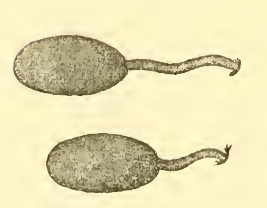


Fig. 12. — Exemple assez rare de germination en partie superficielle (nov.-déc.).

Époques et délais. — Le mois de mai est assez favorable ; les sporules peuvent apparaître après sept ou huit semaines, ou moins.

En juin, juillet, août, même septembre, nulle germination. D'octobre à janvier, l'époque est de nouveau favorable. Les délais pour l'apparition des sporules paraissent plus courts qu'au printemps. L'œuf nous a semblé germer dans certains cas, sept à huit semaines après ensemencement.

Par exemple une spore de Coprin de 1898 est ensemencée le 19 octobre 1899, sur chêne pubescent, à l'arbre. La feuille est détachée le 8 janvier et mise en boîte, elle montre le 15 janvier des œufs dont quelqués-uns paraissent germer.

Des spores placées le 20 septembre sur sapin argenté donnent par exception, le 15 octobre, des accouplements et des œufs ; etc., etc.

Ensemencement. — L'ensemencement se fait avec les spores tombées ou prises sur lamelles d'un Coprin mûr et en déliquescence. Le danger est de mettre trop

de spores. Les résultats ne changent pas lorsqu'on mélange les spores de plusieurs champignons.

De tous les champignons étudiés au point de vue de la germination, le Coprin est celui qui avec la Truffe présente le plus de facilité à l'observation. Il est même supérieur à cette dernière, en ce sens que la pulpe ou plutôt les lamelles n'ayant pas besoin d'être préalablement écrasées pour la mise en liberté des spores, celles-ci ne se trouvent pas mêlées sur le limbe à des fragments et débris de toutes sortes.

Les spores de tous les Coprins, quelle qu'en soit l'espèce, germeraient sans doute de la même façon et conduiraient à des constatations identiques. Pour l'observation il vaut mieux, cela va de soi, prendre des spores aussi grosses que possible, et à ce point de vue la grandeur relative des espèces ne donne aucune indication.

Ainsi les Coprins tête de notaire ou chevelu, le Coprin noir d'encre, le Coprin micacé, dont les chapeaux sont fort larges, portent des spores sensiblement moins grosses que le petit Coprin stercoraire. C'est sur la bouse de vache ou le crottin de cheval que l'on a ramassé les Coprins observés ; il n'y a pas à tenir compte des dimensions du chapeau (1).

Comme les espèces à grosses spores, tels que le stercoraire, le niveus, etc., peuvent à la deuxième ou troisième génération par agamie, même en milieu convenable, avoir des spores plus petites, le mieux est encore, après avoir récolté dans les conditions voulues, de consulter le microscope.

Les colorants n'ont donné aucun bon résultat. L'œuf est toujours difficile à observer. Pour le voir germer, de même que lorsqu'il s'agit d'autres champignons, l'objectif à immersion n'est pas de trop ; et encore, souvent n'est-on sûr de rien.

1. Les Coprins classés d'après le volume de leur spore, en commençant par les plus grosses, se présenteraient dans l'ordre suivant : C. Oblectus, $23\mu \times 13\mu$ — Niveus, $16 \times 12\mu$ — Lagopus, $15 \times 12\mu$ — Tomentosus, $18 \times 9\mu$ — Aphtosus, $15 \times 10\mu$ — Stercorarius, $15 \times 10\mu$ — Tomentosus, Comatus, etc... Cette classification n'a rien d'absolu puisque les spores du même Coprin diminuent de génération en génération, suivant les milieux, lorsque la plante est issue de spore unique.

Observations sur le développement asexué des spores et le rôle de la feuille. — Les spores de Coprin stercoraire ou blanc de neige (en faisant allusion à ce Coprin on ne veut pas dire, je le répète, que les autres se comporteraient différemment, mais simplement que c'est sur cette espèce que les observations ont porté) ont donc ceci de particulier que semblables en cela aux spores du Psalliote champêtre, de la Morille, etc..., elles ont deux formes de germination, l'une sexuée, l'autre asexuée. Elles l'emportent sur la Morille en ce sens que la forme asexuée reproduit facilement, comme on sait, un nouvel échantillon de la plante.

Cette facilité de germination ou plus exactement de *développement* de la spore en mycélium fertile, a, nous semble-t-il, dérouté quelques observateurs de grand mérite cependant, qui ont alors voulu trouver la sexualisation là ou elle n'était pas (v. p. VI) ; ils ont cru reconnaître des différenciations et des actes sexuels dans les formes et rencontres fortuites des filaments et des conidies, et les recherches ont été ainsi maintenues dans une voie où elles ne pouvaient aboutir. En dehors du thalle apogamique, de ses évolutions ou fusions fortuites ou végétatives, tels qu'anastomoses de filaments et conidies, etc., etc., point de sexualité possible ; c'était comme un mot d'ordre, une défense de passer. En réalité, il n'y a aucune ressemblance entre la germination sexuée et le développement asexué des spores ; ce sont des choses différentes.

Dans ces derniers temps le développement et la fructification organiques des spores de certains Agarics ont été l'objet de consciencieuses recherches, surtout en Allemagne. On y a soigneusement étudié, à ce point de vue, le champignon de couche et le Coprin si faciles à obtenir de spores uniques.

M. Van Tieghem fait connaître dans son *Traité de Botanique*, comment les choses se passent pour le Coprin stercoraire d'après Brefeld.

La spore déposée en saison favorable dans un milieu nutritif approprié comme par exemple une décoction de crottin de cheval, en supposant que l'expérience réussisse « germe aussitôt (fig. 13, A) ; à travers une pore située à « l'opposite de son « point d'insertion, « elle pousse une « ampoule bientôt « allongée en un « tube qui ne tarde « pas à se cloisonner et à se ramifier en un thalle « circulaire dont la « spore occupe le « centre et qui continue de croître « à sa périphérie « (C). En même « temps les branches s'anastomosent entre elles « (B), et le long « d'une même « branche, les cellules s'unissent à la hauteur de chaque cloison par un bec « latéral (D) ; de la sorte, les corps protoplasmiques des « cellules primitivement distinctes se trouvent de nouveau « confondus en une masse unique. Après dix à douze jours les « fructifications apparaissent sur le thalle et s'y développent « du centre à la périphérie (fig. 14).

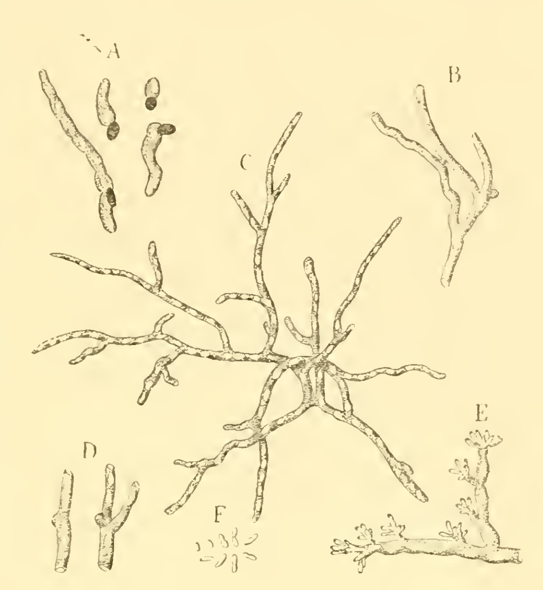


Fig. 13. — Coprin stercoraire (*Coprinus stercorarius*). A, germination des spores. B, Anastomose entre deux branches du jeune thalle. Jeune thalle issu de la spore. D, Anastomose de cellule à cellule le long du même filament. E, Appareil conidifère du C. Lagope (*C. Lagopus*). F, Conidées libres en forme de bâtonnets D'après Brefeld (Van Tieghem, *Traité de Botanique*).

« En un point d'un filament naît une branche qui se « ramifie abondamment, enchevêtre, pelotonne et serre de « plus en plus ses rameaux qui sont tous semblables ; il se « produit de la sorte un tubercule dont la partie interne plus « dense est le début du pied et la zone externe, plus lâche, est

« la volve. Au sommet du noyau, la croissance et la ramifi-
« cation des filaments continue très activement et forme le
« début du chapeau qui s'étend ensuite vers le bas le long du
« pied par une croissance marginale. Sur la face interne du
« chapeau, contre le pied, se dessinent ensuite des côtes
« longitudinales de
« plus en plus sail-
« lantes, qui sont
« les lamelles; à
« leur surface les
« filaments vien-
« nent se terminer
« en palissade pour
« former l'assise qui
« renferme, comme
« on sait, les ba-
« sides, les para-
« phises et çà et là
« des poils. Ces
« derniers ont pour
« rôle d'écarter les
« lamelles les unes
« des autres et du
« pied, de manière à permettre aux basides de s'allonger
« ensuite dans l'intervalle et d'y produire au sommet chacune
« quatre spores. Celles-ci cutinisent et colorent en brun la
« couche externe de leur membrane, excepté au sommet où
« est le pore germinatif.

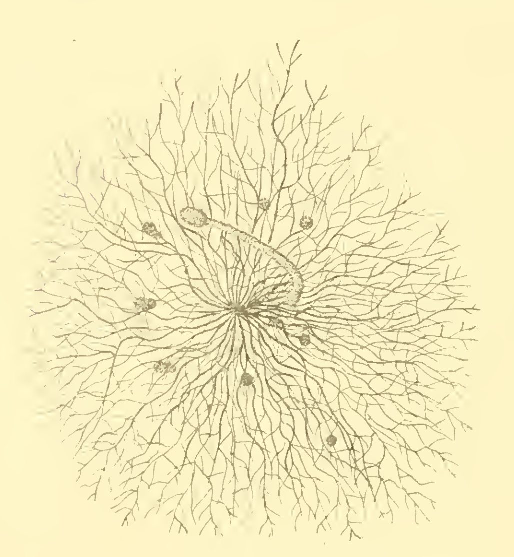


Fig. 14. — Coprin stercoraire. Thalle adulte produit par la spore centrale et portant neuf jeunes appareils sporifères dont une allonge déjà son pied. D'après Brefeld. (VAN TIEGHEM, *Traité de Botanique.*)

« Jusque-là le pied est resté court, se bornant à pousser à
« sa base des filaments qui s'enfoncent tout autour dans le
« milieu nutritif pour contribuer à le fixer et à l'alimenter. Il
« s'allonge alors tout à coup (fig. 14) et très rapidement
« dans sa région supérieure en disloquant la volve et sou-
« levant le chapeau; celui-ci tout couvert de cellules rondes,
« débris de l'enveloppe, se déploie en dédoublant ses lamelles
« comme un parapluie qu'on ouvre, et dissémine ses spores.

« Sa substance se liquéfie ensuite et ce liquide entraînant les « spores non encore détachées tombe goutte à goutte sur le « sol ; il est assez fortement noirci par les spores pour « pouvoir servir d'encre indélébile...»

« Si au cours de cet allongement (du pied) on vient à « couper ou à piquer le pied ou le chapeau, on voit sur la « section ou sur la plaie un des filaments bourgeonner en « quelque point et reformer un tubercule adventif qui devient « bientôt un nouveau fruit, plus petit que le précédent. On « remarquera que, dans ces fruits adventifs, comme par les « fructifications ordinaires, une seule cellule suffit à produire « l'appareil sporifère tout entier. D'autre part si l'on place « un fragment détaché du pied ou du chapeau dans un « liquide nutritif, il pousse un thalle sur lequel se forment « plus tard de nombreux fruits. Seules les cellules rondes, « débris de la volve, qui recouvrent le chapeau, sont inca- « pables de se développer en un thalle nouveau. »

« Dans d'autres conditions et en particulier lorsque le « milieu est abondamment pourvu de matières nutritives et « surtout plus compact, moins aéré, dans la bouse de vache « par exemple, le développement suit une marche un peu « différente chez certaines espèces et notamment chez le « Coprin stercoraire. Il se fait bien encore par la ramification « enchevêtrée et de plus en plus condensée d'une branche « de thalle, un tubercule, mais ce tubercule ne se différencie « pas à l'intérieur : ses cellules grandissent, se pressent les « unes contre les autres en un pseudo-parenchyme, se rem- « plissent de substance de réserve et passent à l'état de vie « latente. En même temps les assises externes cutinisent « leurs membranes et les colorent en noir de manière à pro- « téger la région interne incolore ; elles demeurent vivantes « cependant. En un mot le tubercule devient un sclérote. »

« Plus tard, dans l'air humide, ces sclérotes germent. « Une des cellules périphériques pousse une branche qui se « ramifie aussitôt, enchevêtre, pelotonne ses rameaux et « forme un petit tubercule blanc : celui-ci grandit et se

« différencie ensuite en un appareil sporifère comme il a été « dit plus haut pour le tubercule né sur le thalle. De la base « du pied partent également tout autour des filaments rameux « qui fixent le fruit et lui apportent l'eau nécessaire à sa « croissance. Plus tard le pied s'allonge rapidement, puis « déploie son chapeau et dissémine ses spores. Un même « sclérote peut produire ainsi, aux différents points de sa « surface, un grand nombre de petits tubercules, mais un « seul l'emporte d'ordinaire et se développe en fruit. Le fruit « issu du sclérote peut être coupé, décapité à plusieurs « reprises ; chaque fois il se forme sur la section un nouveau « fruit adventif. Si l'on coupe un sclérote en segments, chaque « morceau germe séparément et donne un fruit plus petit, de « dimension proportionnée à la réserve nutritive qu'il a à sa « disposition. Les expériences les plus diverses montrent « que chaque cellule du sclérote, tant de l'intérieur que de la « zone externe, est capable de produire en bourgeonnant un « appareil sporifère. » (VAN TIEGHEM, *Traité de Botanique*.)

En résumé, les spores comme les sclérotes (comme sans doute certaines conidies) continuent la plante à la façon d'une bouture, d'un bulbille, d'un rhizome, et peuvent leur être physiologiquement assimilées.

En lisant les détails ci-dessus et comparant les figures 11, 12, 13, 14, comment ne pas être frappé de la différence qui existe entre ce mode de développement apogamique et la germination sexuée sur feuille. Il n'y a rien de commun ni physiologiquement, ni morphologiquement. D'un côté nous assistons à une sorte d'extension de la spore agissant comme bulbille, bouture, etc. ; de l'autre à ce qui parait être une sexualisation suivie de fécondation.

D'un côté, la même plante se perpétue ; de l'autre, naît la semence d'une plante nouvelle.

Ce double mode de conservation si fréquent dans la nature appartient non seulement au Coprin et au Psalliote, mais encore, comme on sait, à d'autres champignons, comme par exemple le Tricholome nu, etc., etc. Certaines espèces, au

contraire, ne peuvent être reproduites de cette façon ; telles la Morille, la Truffe, etc. Ni par spore unique ni par mycélium ou blanc, ni par une portion de la substance, on n'a pu obtenir de fructifications (1).

Les plantes qui se continuent ainsi par apogamie, par blanc, bouture, bulbilles, etc., se maintiennent vigoureuses lorsqu'elles sont fortifiées par une culture artificielle, une nourriture choisie, des soins particuliers ; d'autres fois elles dégénèrent plus ou moins vite. En ce qui concerne le Coprin stercoraire, le dépérissement de la plante continuée par apogamie s'accentue parfois rapidement et d'une façon remarquable (v. p. XIII).

La spore du tricholome, ensemencée en milieu favorable, a produit également des sujets diminués et affaiblis (v. p. XII). Il serait facile de citer d'autres exemples.

On peut donc admettre, sans prétendre évidemment que le dépérissement soit général et constant pour tous les champignons, on peut admettre qu'il existe, à la longue surtout, pour les sujets livrés à eux-mêmes et non artificiellement cultivés. La nécessité d'une rénovation éventuelle de l'espèce par production d'une plante nouvelle paraît évidente. Or la sexualisation et l'interfécondation des spores, indispensables pour arriver à ce résultat, ne peuvent être obtenues, croyons-nous, que lorsque celles-ci sont déposées sur ce que j'appellerai le lit nuptial approprié ; sinon le mariage n'a pas lieu.

Dans l'état actuel de nos connaissances, ce lit nuptial serait le limbe de certaines feuilles. Il suit de là que la feuille paraît être moins un aliment que le substratum nécessaire à la sexualité et par conséquent à la rénovation de l'espèce : elle devient également ainsi, par sa nature même, un agent de dissémination.

1. Il convient d'ajouter « jusqu'à présent ». Il n'est point dit que la reproduction par spore unique ou par blanc des champignons aujourd'hui rebelles à la culture ne dépende d'un tour de main que le hasard fera découvrir. Et ce procédé une fois trouvé restera sans doute le plus rapide et le plus sûr, ce qui n'enlève rien, d'ailleurs, à l'intérêt biologique des faits observés.

CHAPITRE VIII

LA MORILLE

La spore. — Feuilles sur lesquelles elle a germé. — Mode de germination. — Époques et délais. — Observations sur le rôle de la feuille et le développement asexué de la spore.

La spore de Morille est ovale, lisse, blanche, transparente. Parfois l'on aperçoit un noyau intérieur, composé d'huile réfringente, et séparé de l'epispore par un liseret de protoplasme hyalin ; d'autres fois la spore paraît renfermer une foule de noyaux ronds formés de ce même protoplasme condensée.

Feuilles sur lesquelles elles germent. — Les essais tentés avec la spore de Morille ont porté sur le chêne pubescent, le chêne ordinaire, le bouleau, l'orme, le poirier, le sapin argenté, le gazon, etc. Le chêne pubescent et le sapin argenté nous ont donné les meilleurs résultats ; les graminées ne réussissent pas ; sur le bouleau, l'orme, l'observation est incertaine.

On a essayé de trouver une différence, quant à la germination sur chênes ou conifères, entre les Morilles *deliciosa, esculenta, conica, semi-libera,* dont les unes se rencontrent de préférence sous l'arbre vert, les autres sous le chêne, mais rien de concluant n'a été observé.

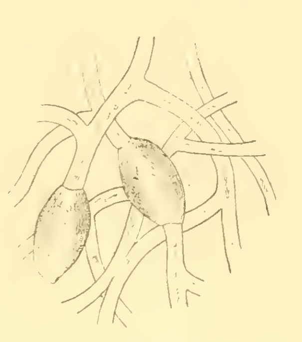
Mode de germination. — Il est le même sur feuille que celui de la truffe et des autres champignons. Même sexualisation, même accouplement, mêmes œufs (*c*, *d*, *e*, pl. III).

La spore de Morille, comme celle du Coprin, a ceci de

particulier qu'elle germe assez facilement dans l'eau, lorsque celle-ci n'est pas acide. Cette germination ou plutôt cette extension se produit au printemps et en automne-hiver. Elle est d'ailleurs irrégulière en ce sens que toutes les spores ne germent pas facilement, que celles de certains sujets ne germent pas du tout (1).

Malgré la similitude, quant à l'époque favorable qui paraît exister entre la germination des spores sur feuille et celle qui a lieu dans l'eau ou sur une substance appropriée (telle que, par exemple, pomme de terre sucrée et préparée), il existe entre ces deux modes de développement, comme pour le Coprin, des différences fondamentales.

La germination sur feuille produit des gamètes de sexes différents, des copulations et des œufs; le développement en milieu nutritif ordinaire paraît être une simple extension apogamique de la spore se comportant comme un bulbille, rhizome. Impossible de découvrir dans cette dernière évolution la moindre trace de sexualité, de fécondation, d'accouplement. Nulle différence, nulle attraction entre les filaments (v. fig. 15). Ce mycélium, comme on sait, ne reproduit pas la plante quant à présent. Sur substance appropriée, stérilisée et en tube, il peut se développer, rarement il est vrai, en longs filaments jaunes, qui se replient sur eux-mêmes et se terminent à la longue par des conidies jaunes, opaques, en chapelet. Mises en terre dans des conditions favorables, en milieu nutritif, ces conidies, après huit ans, n'ont rien produit. Même sur feuille, s'il y a excès d'eau, dépôt de matière nutritive comme du sucre, la spore peut se développer dans la forme apogamique.


Fig. 15. — Germination de la spore de Morille dans l'eau.

1. Il arrive même de rencontrer des Morilles très mûres dont les asques ne renferment pas de spore et ne contiennent qu'un liquide protoplasmique jaunâtre.

Il n'y a donc aucune ressemblance, à première vue, entre la forme du développement apogamique de la spore et sa germination sexuée : pour s'en convaincre il suffit de comparer les fig. *c, d, e,* pl. III, et la fig. 15 ; et si ce n'était par crainte de nous répéter nous pourrions présenter ici de nouveau toutes les observations faites plus haut sur la double germination des spores, ou plutôt sur la germination sexuée, d'une part, et le simple développement asexué de l'autre.

Epoques favorables et délais. — Avril-mai ; puis novembre-décembre, comme la Truffe et le Coprin. De juin à septembre, rien.

Les délais sont tant pour la germination que pour la fécondation ceux de la Truffe et du Coprin.

Des *deliciosa* ensemencés le 28 octobre sur feuilles de chêne pubescent montrent le 20 novembre des sporules formées. Des *deliciosa* et des *conica,* ensemencés le 4 novembre, sur sapin argenté, montrent le 20 novembre des œufs nombreux, etc., etc.

Les sporules paraissent germer quelquefois huit à dix semaines après ensemencement, mais l'observation est difficile et l'on ne peut avoir de certitude.

La réussite des expériences est aléatoire ; il y a beaucoup de manquants : ce qui ferait croire que les feuilles, du moins celles que nous avons essayées, ne sont pas un substratum des plus propices à la germination.

Ensemencement. — Un morceau de Morille est mis à détremper dans l'eau pendant quatre ou cinq jours ; il subit un commencement de pourriture et les asques se désagrègent. On promène alors un pinceau dans les cavités, puis on le lave dans quelques gouttes d'eau ; cette eau contient un grand nombre de spores libres.

L'observation est aussi difficile que fatigante ; elle exige de forts grossissements, 400 diamètres et plus ; et encore,

dans beaucoup de cas, on ne voit que très peu et très mal ; sur sapin argenté, il est littéralement impossible de rien distinguer. Les colorants s'imposent ; les meilleurs sont l'hematoxyline et le violet de méthylène ; les autres ne donnent que des résultats insuffisants. L'hematoxyline est préparée selon la formule un peu modifiée du Dr Bellanger.

On mélange	Hematoxyline en poudre. . .	1 gr.
	Alcool absolu.	50 gr.
	Ammoniaque	1 gr.

et l'on fait évaporer jusqu'à ce que toute odeur d'ammoniaque ait disparu. Le liquide est alors additionné de 250 gr. de solution concentrée d'alun, et de 250 gr. d'eau, et de quelques gouttes d'acide acétique, et l'on filtre deux fois à quelques jours d'intervalle. En laissant le flacon ouvert, la puissance tinctoriale s'augmente considérablement.

Les feuilles sont laissées de 30 à 60 minutes dans le colorant, puis un quart d'heure dans l'eau. Les spores apparaissent alors ; quelques-unes teintées, la plupart se détachant sur le fond coloré.

Le violet de méthylène colore presque trop fortement la spore et ses alentours. Tout est violet, les poils, les débris, les mucosités, les filaments parasites, les moindres aspérités ; on ne s'y reconnaît plus. En outre, il déforme les spores plus que l'hematoxyline.

Le mode d'emploi est classique. On prépare, au moment de s'en servir, le bain composé d'eau et de quelques gouttes de solution alcoolique concentrée de violet. La feuille est immergée pendant deux ou trois minutes, passée à l'eau, puis observée encore humide.

CHAPITRE IX

PSALLIOTES, etc.

Psalliotes, Bolets, Sclerodermes, etc. — Observations générales.

Il serait fastidieux de répéter ici pour le Bolet, le Scleroderme, le Psalliote et d'autres Agarics, ce que nous avons dit des champignons déjà étudiés.

Les modes de germination sont presque identiques ; les époques et délais paraissent les mêmes (c. pl. III, et fig. 16).

Nous ferons remarquer en passant que pour le *Psalliota campestris* (champignon de couche), notamment, la différence entre le développement apogamique de la spore et la germination sexuée, est peut-être encore plus frappante que pour la Morille ou le Coprin. Il suffit pour s'en convaincre de comparer la germination sexuée sur feuille des spores de psalliote exactement représentée par nos figures sur la Truffe ou le Coprin, avec les étapes du développement asexué de ces mêmes spores depuis l'origine jusqu'à la reconstitution de la plante même. Tâche d'autant plus aisée que les différentes phases de ce développement asexué ont été étudiées avec le plus grand soin par les botanistes allemands et que des gravures très bien faites nous donnent l'exacte perception des transformations successives.




Fig. 16. — Spores de Bolet germant.

On aurait pu reproduire et commenter ces gravures pour les besoins de la cause, mais c'eût été, il semble, allonger inutilement cet ouvrage par des redites insipides à la longue et fatigantes pour le lecteur.

Pour quelques-unes des espèces énumérées ci-dessus, l'observation est particulièrement difficile, sinon impossible. La petitesse des spores, comme dans certains Psalliotes, le Lycoperdon, etc., est telle que l'on ne peut rien affirmer. Lorsque la spore est à la fois petite et transparente comme celle de plusieurs Agarics, la difficulté d'observation se change en impossibilité.

Souvent on ne voit qu'une phase de la germination, la première par exemple, mais comme celle-ci s'accorde avec ce que nous savons d'autre part, il semble permis, dans une certaine mesure, d'en tirer conclusion pour la similitude de l'évolution totale.

Les sporules ou œufs, beaucoup plus petits que les spores, sont à plus forte raison, quoique noirs, à peine perceptibles dans certaines espèces, malgré l'emploi de forts grossissements. Quant à la germination de ces sporules, l'objectif à immersion pourrait seul la révéler et encore il nous semble que toute certitude ferait défaut. Pour le Bolet, par exemple, dont la sporule est relativement grosse, l'apparence existe parfois, mais une apparence qui laisse le doute subsister.

Il est à remarquer que, sans cause visible, certaines spores aboutissent à des insuccès complets (1). D'autres fois le nombre des manquants dépasse toute proportion ; d'autres fois la feuille ne conserve pas une des spores déposées sur le limbe. Certaines feuilles, que l'on pourrait croire particulièrement convenir aux spores de telle ou telle espèce, comme par exemple les feuilles de châtaignier pour les Bolets ramassés au pied de ces mêmes arbres, n'ont donné aucun résultat.

Cela tendrait à prouver que les feuilles, celles du moins

1. Ces insuccès ne paraissent pas tenir à l'âge ou à la fraîcheur des spores, au moins dans des limites raisonnables. Les spores conservées à l'abri d'une trop grande chaleur ou de la pourriture n'ont pas toutes perdu la faculté de germer après un ou deux ans. Il y a seulement des manquants en nombre de plus en plus considérable. La fraîcheur de la spore importerait donc moins que sa maturité ou surtout que la saison.

que nous avons employées, loin de fournir à la germination sexuée le substratum idéal, ne sont, pour certaines espèces, qu'un pis-aller. Peut-être aussi la cause de l'échec réside-t-elle ailleurs, dans la spore ou dans la stérilité de la plante même ; il est difficile de répondre.

CONCLUSION

Dans les chapitres qui précèdent, on s'est étendu outre mesure et au point d'en être insipide, sur les méthodes d'ensemencement et les procédés d'observation. Ces développements, dont l'intérêt intrinsèque est minime, avaient un double but ; d'une part, simplifier la tâche à ceux qui voudraient contrôler les faits exposés et compléter des observations qui n'en sont encore qu'à l'état rudimentaire ; d'autre part, provoquer et faciliter des expériences pratiques.

Outre l'intérêt matériel qu'il y aurait à multiplier artificiellement certains champignons impossibles à cultiver en ce moment et récoltés au hasard, une théorie, si vraisemblable qu'elle paraisse, sur la production sexuée des thallophites ne pourra être déclarée exacte, il faut bien le dire, que lorsque son application aura donné des résultats tangibles et certains.

C'est pourquoi nous dirons simplement, en terminant cet ouvrage :

Lorsqu'on voit des spores de champignons très différents les uns des autres se comporter dans des circonstances déterminées de façon constamment identique, suivant un mode très particulier, il semble permis de conclure que l'évolution constatée est l'effet d'une loi obligatoire dans les circonstances en question. Et lorsque l'on remarque que les diverses phases de l'évolution observée possèdent à un haut degré les caractères d'un acte sexuel, ne sauraient que difficilement s'expliquer autrement et ne se rencontrent nulle part ailleurs avec la même précision dans la vie de ces plantes, il est permis de supposer, sans rien affirmer cependant, que l'on se trouve en face de la loi de reproduction sexuée des champignons supérieurs ou d'une partie de cette loi. C'est tout ; n'allons pas plus loin.

TABLE DES MATIÈRES

Paris. — J. Mersch, imp., 4 bis, Av. de Châtillon.

PLANCHE I.

Fig. *a*. — Spores de la Truffe. Germination sexuée extérieure (décembre).

Fig. *b*. — Id. Germination mâle, visible à travers l'épiderme (juillet) rare.

Fig. *c*. — Id. Autre exemple de germination sexuée (décembre).

Fig. *d*. — Id. Germination mâle; près de la pseudo-spore apparaît la sporule femelle d'une autre spore (décembre).

Fig. *e*. — Id. Germination partiellement extérieure et colorée (juillet) rare.

Pl. I

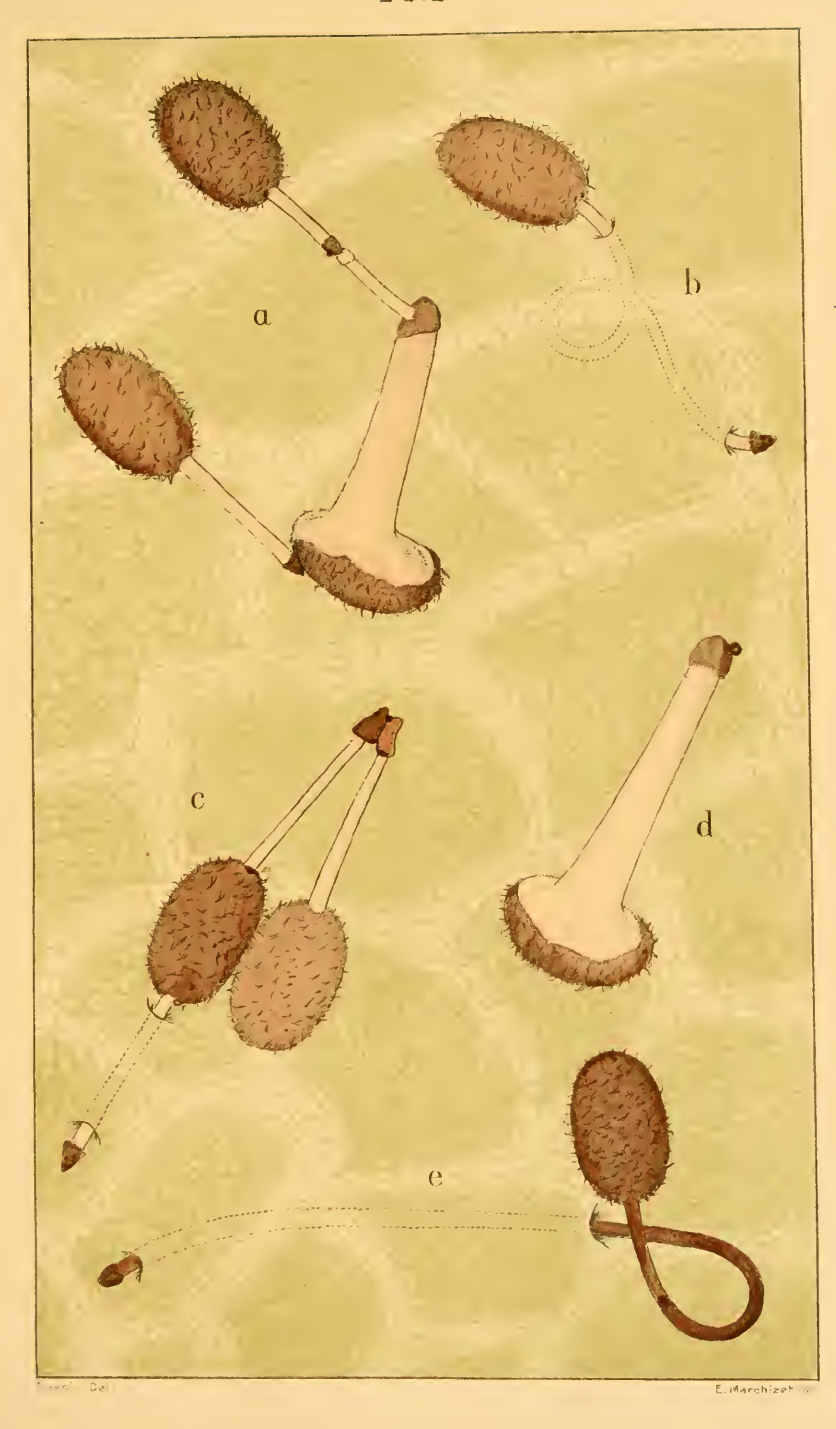


PLANCHE II.

Fig. *a*. — Spores de la Truffe. Germination avec sporules en chapelet (printemps, septembre) rare.

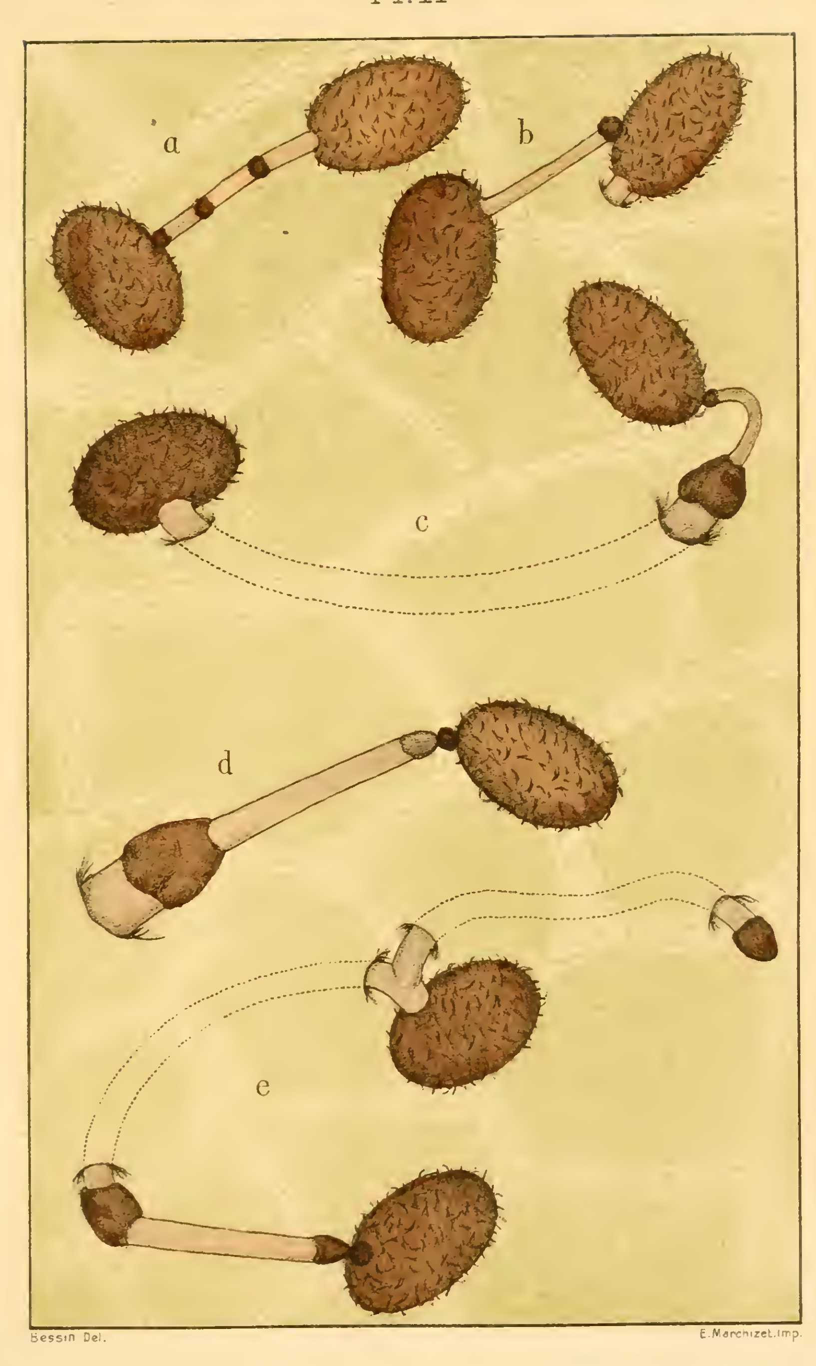
Fig. *b*. — Id. Germination femelle extérieure (décembre).

Fig. *c*. — Id. Germination mâle avec fécondation apparente par jet secondaire (décembre).

Fig. *d*. — Id. Pseudo-spores émettant un jet secondaire extérieur et fécondant une sporule femelle (décembre).

Fig. *e*. — Id. Germination mâle avec subdivision du filament principal (décembre).

Pl. II



Bessin Del.   E. Marchizet. Imp.

PLANCHE III.

Fig. *a*. — Spore de truffe du Piémont (*tuber magnatum*) produisant un œuf très gros qui paraît germer (novembre).

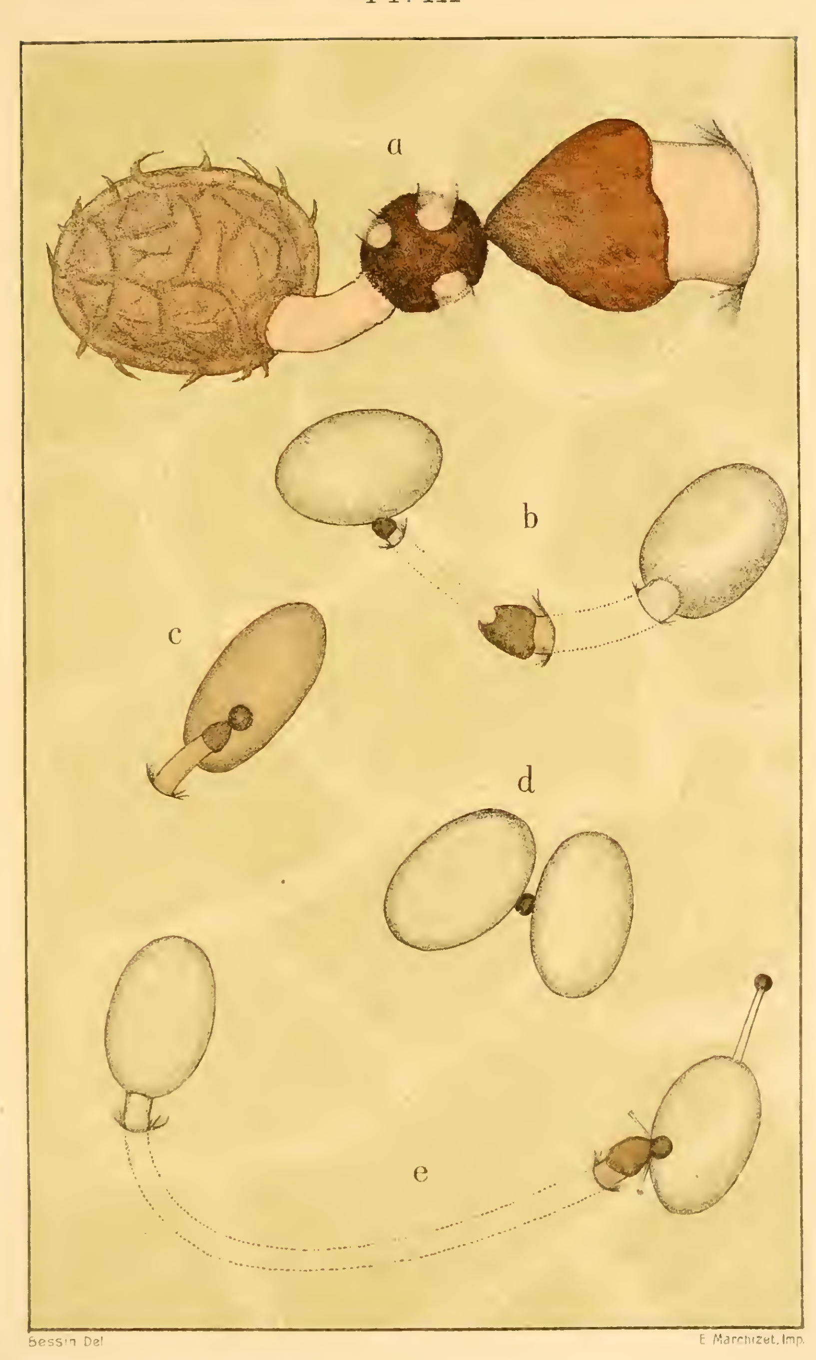
Fig. *b*. — Spore de Morille germant.

Fig. *d*. — Autre aspect d'une germination de spore de Morille.

Fig. *e*. — Spore de Morille mâle fécondant une spore femelle (novembre).

Fig. *c*. — Fécondation d'une spore de Bolet comestible.

Pl. III



Bessin Del.   E. Marchizet, Imp.

